



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE
CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

**El metabolismo fosfocálcico como predictor de
agudizaciones e ingresos en la EPOC**

Phosphocalcic metabolism as a predictor of
exacerbations and admissions in COPD

Autor: Dña. Paula Fueyo García

Director/es: D. Carlos Amado Diago

Dña. María Teresa García Unzueta

Santander, Junio 2020

*Las ideas no duran mucho,
hay que hacer algo con ellas*

Santiago Ramón y Cajal

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Carlos Amado y Dra. Mayte G-Unzueta, por su inestimable ayuda, escucha y dedicación, más si cabe en esta situación tan comprometida en la que nos encontramos.

A la Dra. M^º Cruz Gutiérrez, por su buen hacer y por transmitirme el lado más humano y social de la Medicina.

Al Dr. Pedro de Orte, por descubrirme el apasionante mundo de la Psiquiatría.

A mis padres, artífices de todo lo que soy; gracias Papá por inculcarme la constancia y perseverancia, gracias Mamá por no soltarme nunca de la mano y creer en mí.

A mi hermano, consejero y confidente y al otro David de la familia; mi abuelo, al que le hubiera encantado tener este documento en las manos.

A Marcos, mi sidecar; cariño y paciencia sin límites.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS

ABREVIATURAS

RESUMEN 7

ABSTRACT 8

INTRODUCCIÓN 9

1. ENFERMEDAD PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA (EPOC)	9
1.1 DEFINICIÓN	9
1.2 CARACTERÍSTICAS GENERALES	9
1.3 PATOGENIA	10
1.4 DIAGNÓSTICO	13
1.5 TRATAMIENTO	14
1.5.1 MEDIDAS GENERALES	14
1.5.2 TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO	15
2. ABSORCIÓN DE CALCIO	15
3. ABSORCIÓN DE FOSFATO	17
4. HOMEOSTASIS DEL CALCIO	17
4.1 VITAMINA D	18
4.1.1 EFECTOS CELULARES DE LA VITAMINA D	20
4.2 PTH	23
4.2.1 EFECTOS CELULARES DE LA PTH	24
4.3 CaSR	25
5. ANÁLISIS DEL METABOLISMO ÓSEO	26
5.1 FOSFATASA ALCALINA ÓSEA	27
5.2 MARCADORES DERIVADOS DEL COLÁGENO TIPO 1	27
6. EPOC Y METABOLISMO ÓSEO	28
6.1 FACTORES DE RIESGO DE LA OSTEOPOROSIS EN LA EPOC	29

6.1.1	FACTORES GENERALES	29
6.1.2	FACTORES ESPECÍFICOS	30
6.2	TRATAMIENTO	31
7.	HORMONAS METABÓLICAS IMPLICADAS EN LA EPOC Y EN LA INMUNIDAD	31
	HIPÓTESIS	33
	OBJETIVOS	33
1.	OBJETIVOS GENERALES	33
2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
	MATERIAL Y MÉTODOS	34
1.	DISEÑO DEL ESTUDIO	34
2.	SELECCIÓN DE LOS PACIENTES	34
3.	RECOGIDA DE DATOS	34
4.	DETERMINACIONES ANALÍTICAS	35
5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	36
	RESULTADOS	38
	DISCUSIÓN	42
	LIMITACIONES DEL ESTUDIO	44
	FORTALEZAS DEL ESTUDIO	44
	CONCLUSIONES	44
	ANEXOS	46
	BIBLIOGRAFÍA	51

ABREVIATURAS

ALT: Alanina aminotransferasa.
CALCA: Gen que codifica a la calcitonina.
CaSR: Receptor sensible al calcio.
CAT: Prueba de valoración de la EPOC.
CC-16: Células club 16.
CEIC: Comité ético de investigación de Cantabria.
 β -CrossLaps: Telopéptido carboxilo terminal del colágeno tipo 1.
 β -CTX: Telopéptido carboxilo terminal del colágeno tipo 1.
CYP27A1: 25-hidroxilasa.
CYP27B1: 1-hidroxilasa.
DBP: Proteína transportadora de la vitamina D.
DMO: Densidad de la masa ósea.
ELISA: Inmunoensayo de doble anticuerpo.
EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica.
FA: Fosfatasa alcalina.
FAO: Fosfatasa alcalina ósea.
FEV1: Volumen espiratorio forzado en el primer segundo.
FFMI: Índice de masa libre de grasa.
FGF: Factor de crecimiento de los fibroblastos.
FGFR: Receptor del factor de crecimiento de los fibroblastos.
FVC: Capacidad vital forzada.
GGT: γ -glutamyl transpeptidasa.
GOLD: Iniciativa global para la enfermedad pulmonar obstructiva crónica.
GPCR: Receptor de membrana acoplado a una proteína G.
IL-1: Interleukina 1.
IL-8: Interleukina 8.
IMC: Índice de la masa corporal.
Kco: Factor de transferencia pulmonar de monóxido de carbono.
LABA: Agonistas β -adrenérgicos de acción larga.
LAMA: Antagonistas muscarínicos de acción larga.
MMPs: Metaloproteinasas de matriz extracelular.
mMRC: Consejo de investigación médico modificado.
NCX: Intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$.
NPT2: Cotransportador Na^+/Pi .
OPG: Osteoprotegerina.
PCR: Proteína C reactiva.
PGE2: Prostaglandina E2.
PGF2 α : Prostaglandina F2 α .
P1NP: Propéptido amino terminal del procolágeno tipo 1.
Pi: Fosfato.
PPi: Pirofosfato.
PMCA1b: ATPasa calcio dependiente.
PTH: Hormona paratiroidea.
PTHR1: Receptor de la PTH.
RANK: Receptor activador del factor nuclear κB .

RANKL: Ligando del receptor activador para el factor nuclear κ B.

RXR: Receptor X del ácido retinoico.

SEPAR: Sociedad española de neumología y cirugía torácica.

SERMs: Moduladores selectivos del receptor de estrógenos.

sRAGE: Receptores solubles de los productos de glicación avanzados.

TNF α : Factor de necrosis tumoral α .

TRPV: Receptor del potencial transitorio vaniloide.

T6MM: Prueba de 6 minutos de marcha.

VDR: Receptor nuclear de la vitamina D.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN. La EPOC es una enfermedad pulmonar con prevalencia de las comorbilidades, las cuales pueden jugar un papel importante en el curso de la enfermedad. El manejo de esas comorbilidades es esencial clínicamente porque se asocian a hospitalización, mortalidad y empeoramiento de la calidad de vida en esos pacientes con EPOC. El objetivo de este trabajo es conocer el valor pronóstico de distintas variables clínicas y biológicas que aumentan el número de ingresos y empeoran la calidad de vida en los pacientes con EPOC.

METODOLOGÍA. Se realiza un estudio prospectivo observacional para determinar las características antropométricas, clínicas y biológicas en pacientes diagnosticados de EPOC y evaluar sus factores de riesgo. Se calcularon las funciones pulmonares y se analizaron distintas variables biológicas, entre ellas la PTH, Vitamina D, Calcio, Fosfatasa alcalina, Fosfatasa alcalina ósea, P1NP, β -CrossLaps, FGF23 y esclerostina, implicadas en el metabolismo y remodelado óseo. Se estudiaron las distintas correlaciones entre esas variables biológicas y el pronóstico de ingreso de los pacientes con EPOC.

RESULTADOS. Se estudiaron 154 pacientes diagnosticados de EPOC (66,3% varones). Se ha observado una correlación positiva de la PTH con la fosfatasa alcalina, fosfatasa alcalina ósea y el magnesio, y negativa con la vitamina D, albúmina, y calcio total corregido. Además, se ha observado una correlación negativa entre la vitamina D y la fosfatasa alcalina. Existe una correlación positiva entre P1NP y β -CrossLaps y una correlación negativa entre la esclerostina y el fósforo. En pacientes con EPOC las concentraciones séricas elevadas de PTH se asocian significativamente a un aumento en los ingresos hospitalarios.

CONCLUSIÓN. Los niveles séricos de PTH pueden ser utilizados como un biomarcador de la EPOC para predecir un mayor número de ingresos.

Palabras clave. EPOC, PTH, Vitamina D, Calcio, P1NP, β -CrossLaps, Esclerostina

ABSTRACT

INTRODUCTION. COPD is a lung disease with a prevalence of comorbidities, which can play an important role in the course of the disease. The management of these comorbidities is clinically essential because they are associated with hospitalization, mortality and worsening quality of life in these COPD patients. The aim of this paper is to understand the prognostic value of different clinical and biological variables that increase the number of admissions and worsen living standards in COPD patients.

METHODOLOGY. A prospective observational study has been carried out to determine the anthropometric, clinical and biological characteristics of patients diagnosed with COPD and to evaluate their risk factors. Lung functions were calculated, and different biological variables were analyzed, including PTH, Vitamin D, Calcium, Alkaline Phosphatase, Bone Alkaline Phosphatase, P1NP, β -CrossLaps, FGF23 and Sclerostine, which are involved in bone metabolism and remodelling. The different correlations among these biological variables and the prognosis of COPD patients.

RESULTS. 154 patients diagnosed with COPD were studied (66.3% male). A positive correlation of PTH with alkaline phosphatase, alkaline bone phosphatase and magnesium was observed, and a negative one with vitamin D, albumin, and corrected total calcium. In addition, a negative correlation has been observed between vitamin D and alkaline phosphatase. There is a positive correlation between P1NP and β -CrossLaps and a negative correlation between sclerostine and phosphorus. In patients with COPD high serum PTH concentrations are significantly associated with increased admissions.

CONCLUSION. Serum PTH levels can be used as a biomarker of COPD to predict higher admissions.

KEYWORDS. COPD, PTH, Vitamin D, Calcium, P1NP, β -CrossLaps, Sclerostine

INTRODUCCIÓN

1. ENFERMEDAD PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) la desarrollan aproximadamente el 30% de los fumadores y se caracteriza por una limitación del flujo aéreo y destrucción alveolar o enfisema. La EPOC es una de las principales preocupaciones para la salud, causando una considerable morbilidad y mortalidad (1). Aunque inicialmente se describe como una enfermedad pulmonar, condiciones crónicas extrapulmonares o comorbilidades pueden jugar un papel importante en el curso de la enfermedad contribuyendo a la severidad de la enfermedad y al impacto de su pronóstico y mortalidad (2-4).

La EPOC es una condición relacionada con la edad existiendo evidencias de una relación con los procesos de envejecimiento acelerado. La prevalencia de la EPOC es del 6-8% de la población, y esta enfermedad se asocia con comorbilidades extrapulmonares, tales como debilidad muscular respiratoria, enfermedad cardiovascular, así como un control autonómico anormal de la función cardiopulmonar. Globalmente es la cuarta causa de mortalidad en el mundo, con más de 3 millones de muertes al año (3, 5-7).

1.1 DEFINICIÓN

La EPOC se define como una enfermedad evitable y tratable caracterizada por limitación persistente del flujo aéreo, que generalmente es progresiva y se asocia con un aumento de la respuesta inflamatoria crónica en las vías aéreas y en el pulmón a partículas nocivas o gases, particularmente a la inhalación del humo del tabaco. Se caracteriza por provocar una obstrucción bronquial que es irreversible o parcialmente reversible (8-10). La EPOC se reconoce como una enfermedad multisistémica complicada con distintas comorbilidades que incluyen aterosclerosis, osteoporosis, debilidad muscular, cáncer, diabetes y ansiedad/depresión. El manejo de esas comorbilidades es importante clínicamente porque se asocian a hospitalización, mortalidad y un empeoramiento de la calidad de vida en los pacientes que sufren la EPOC (11,12).

1.2 CARACTERÍSTICAS GENERALES

La EPOC se asocia con manifestaciones sistémicas tales como la disminución de la densidad de la masa ósea (DMO) y masa muscular, disminución de la filtración glomerular, aumento de la rigidez arterial y resistencia insulínica, procesos relacionados con el envejecimiento (13,14).

Los pacientes con EPOC muestran inflamación sistémica crónica asociada a cambios en las vías aéreas y en la función endotelial. Esta inflamación sistémica puede ser el resultado de un exceso de mediadores inflamatorios liberados desde el pulmón a la circulación (15). Así, distintos mediadores inflamatorios se pueden liberar del pulmón envejecido o enfisematoso como parte del fenotipo secretor asociado a la senescencia de las células pulmonares. En efecto, en los fumadores, el pulmón es el primer tejido que sufre la senescencia celular (16-18).

Existen evidencias de que la EPOC se relaciona con el envejecimiento. Así, pacientes con EPOC exhiben acortamiento de los telómeros de los leucocitos circulantes al compararlos con los fumadores sin EPOC (19,20). Además, otros estudios apoyan la idea de una asociación entre la EPOC y la exagerada senescencia de las células pulmonares que contribuyen a la patogénesis de la enfermedad (16,21).

Una hipótesis actual es que la EPOC se adscribe a manifestaciones sistémicas de un proceso global de envejecimiento acelerado. Otra posibilidad es que la inhalación del humo del cigarrillo, que es la causa más común de la EPOC, también es responsable de las manifestaciones de la enfermedad, independientemente de las alteraciones funcionales del pulmón (22).

Las anomalías de las vías aéreas relacionadas con la edad, en pacientes con EPOC, también se presentan en fumadores con lesión pulmonar temprana manifestada por un bajo coeficiente del factor de transferencia pulmonar de monóxido de carbono (Kco) (14).

1.3 PATOGENIA

Varios estudios han mostrado un aumento de la prevalencia de las comorbilidades en pacientes con EPOC cuando se comparan con los fumadores sin EPOC y con los no fumadores. Así, la inhalación del humo del tabaco y la reducción en la actividad física diaria pueden ser factores de riesgo importantes para el desarrollo de condiciones comórbidas (13,14,23-26). Teniendo en cuenta estos estudios se plantea la cuestión si las alteraciones pulmonares sistémicas y la EPOC se relacionan mediante un mecanismo patogénico común o si las manifestaciones sistémicas están directamente impulsadas y/o empeoradas por las alteraciones pulmonares (14). Se ha propuesto que un exceso de la inflamación o un proceso de envejecimiento prematuro pueden ser los mecanismos de unión de estos procesos (22,27).

El consumo de cigarrillos en pacientes con EPOC causa una serie de manifestaciones pulmonares con combinaciones variables de daño alveolar, tales como enfisema, llevando a una alteración de la difusión alveolar y remodelado bronquial induciendo un incremento

de la resistencia del tracto respiratorio. El enfisema se vincula frecuentemente a baja densidad ósea, reducción de la masa muscular y rigidez arterial (25,28,29).

Otra cuestión es que las partículas inhaladas en el humo del cigarrillo puedan difundir más fácilmente desde las vías aéreas a la circulación cuando la estructura pulmonar ya se encuentra alterada. Este fenómeno podría explicar la potenciación del efecto sistémico del humo cuando el pulmón se encuentra alterado (14).

La EPOC se caracteriza por una serie de cambios fisiopatológicos iniciados y disparados por la exposición a contaminantes inhalados, principalmente al humo del cigarrillo, dando lugar a inflamación de las vías aéreas por activación de las células epiteliales pulmonares y de las células inflamatorias (3). Como resultado de sus mediadores quimiotácticos se activan las células del sistema inmune, tales como neutrófilos, monocitos y linfocitos induciendo una inflamación crónica pulmonar (Figura 1). Como consecuencia de la inflamación se producen cambios estructurales dando lugar a obstrucción bronquial y síntomas respiratorios en las vías aéreas (30,31). El proceso finalmente promueve la alteración del endotelio vascular pulmonar que conlleva a hipertensión pulmonar tipo 3 (32).

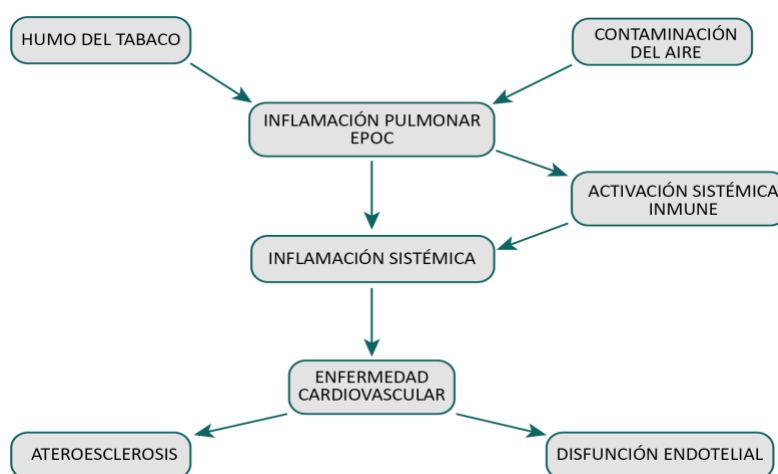


Figura 1. Cambios fisiopatológicos producidos por el humo del tabaco y contaminación del aire.

Los vasos pulmonares se encuentran revestidos por las células endoteliales, formando una simple capa de células, que producen una delgada capa extracelular de colágeno, proteoglicanos y lamininas denominada membrana basal (33). El endotelio de pacientes con EPOC se caracteriza por anomalías morfológicas y funcionales mostrando una membrana basal más gruesa y fragmentada con respecto a los individuos sanos (Figura 2).

En la pared vascular se observan células endoteliales apoptóticas interrumpiendo la pared alveolar, consecuentemente el flujo sanguíneo al septo pulmonar es más limitado, realizando la morfología enfisematosa. Además, aumenta dramáticamente la actividad de neutrófilos y macrófagos los cuales liberan elastasa y metaloproteinasas degradando la matriz extracelular y disminuyendo las fibras elásticas. Como resultado el septo alveolar pierde su elasticidad y finalmente se colapsa (34-38).

Tanto las células pulmonares estructurales como las inflamatorias liberan distintos mediadores inflamatorios, aumentando su cantidad a medida que se desarrolla la EPOC, que alcanzan la circulación sanguínea induciendo inflamación sistémica potenciando la disfunción endotelial. Entre esos mediadores inflamatorios se encuentran las metaloproteinasas de matriz (MMPs), que elevan la inflamación al generar péptidos quimiotácticos que atraen a los neutrófilos. Así, las MMP-10 y MMP-12 juegan un papel importante en el desarrollo del enfisema pulmonar (35,39,40). Existen, también, diversas citoquinas y quimioquinas que actúan como mediadores inflamatorios en la EPOC.

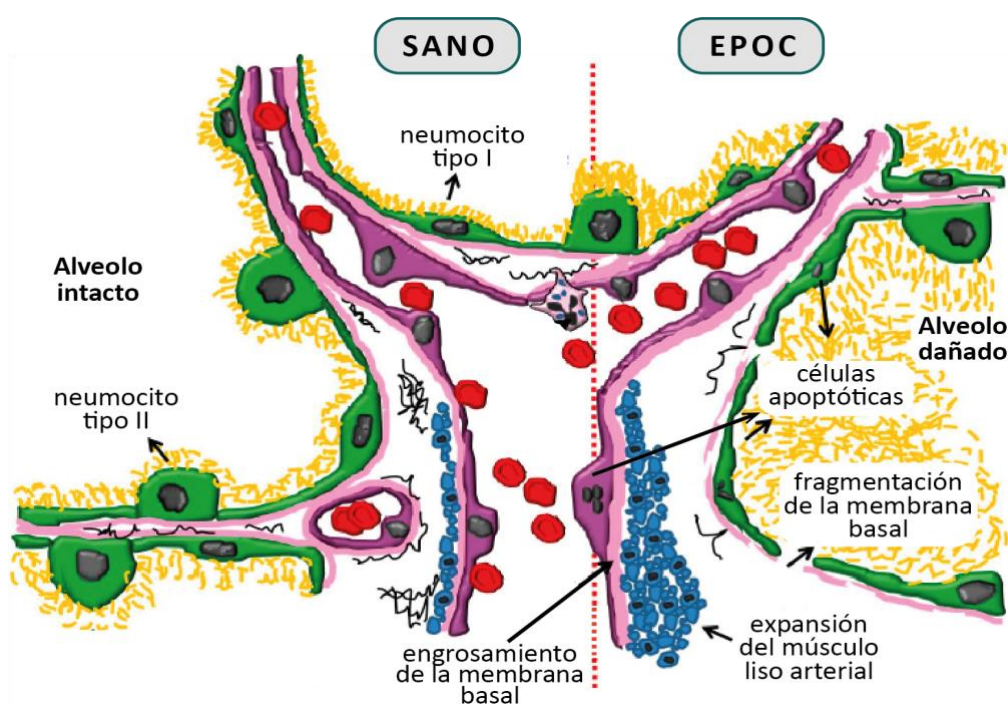


Figura 2. Cuadro esquemático del septo alveolar de individuos sanos y con EPOC.

Se ha observado que distintos mediadores lipídicos, como la PGE₂, PGF₂ α y el leucotrieno B₄, están elevados significativamente en pacientes con EPOC (41).

Otros mediadores inflamatorios, utilizados como biomarcadores, son esenciales para valorar los factores de riesgo de la EPOC o la severidad de su curso. Entre ellos se

encuentran el fibrinógeno, la proteína C reactiva, receptores solubles para los productos de glicación avanzados (sRAGE), surfactante de la proteína D y las células club-16 (CC-16) (42).

Los fumadores y pacientes con EPOC, en una etapa temprana, muestran evidencias de disfunción endotelial con reducción de la relajación endotelial y engrosamiento de la pared de las pequeñas arterias (43,44). La exposición al humo del tabaco realza la producción de granulocitos, causa infiltración neutrofílica y eosinofílica pulmonar e inflamación que conduce al reclutamiento de neutrófilos y de otras células inflamatorias dentro del pulmón persistiendo la inflamación pulmonar (45).

La disfunción endotelial es un factor pronóstico muy significativo en la EPOC, que se puede caracterizar por la velocidad de la onda de pulso (38). Una mejor comprensión de la patogénesis de las alteraciones sistémicas en la EPOC puede llevar a mejores estrategias preventivas y terapéuticas.

1.4 DIAGNÓSTICO

De acuerdo con la iniciativa global para la EPOC, guía GOLD 2017, la enfermedad se estratifica desde leve a formas muy severas según el grado de limitación del flujo aéreo valorado por espirometría (1,46). Los criterios de inclusión para el diagnóstico de EPOC es una relación $FEV_1/FVC < 0,7$ y una mejoría en el test broncodilatador de menos de 200 ml o menos de un 12%, siendo FEV_1 el volumen espiratorio forzado en el primer segundo y FVC la capacidad vital forzada.

Los pacientes con EPOC se pueden clasificar según la guía GOLD en:

ESTADÍO	CARACTERÍSTICAS	GRADO
GOLD 1	$FEV_1 \geq 80\%$	Leve
GOLD 2	FEV_1 entre 50 % y 79 %	Moderada
GOLD 3	FEV_1 entre 30 % y 49 %	Grave
GOLD 4	$FEV_1 < 30\%$	Muy grave

A pesar de la gran importancia que tiene el FEV_1 como factor pronóstico en la EPOC, en la actualidad son otras variables las que se utilizan para la toma de decisiones terapéuticas en la EPOC. El grado de disnea según la escala mMRC (*Medical Research Council* modificado), y el CAT (*COPD Assessment Test*) permiten diferenciar entre pacientes

sintomáticos (grupos B y D de GOLD) y no sintomáticos (grupos A y C de GOLD). La frecuencia de las exacerbaciones y el número de ingresos permiten diferenciar entre pacientes agudizadores (C y D de GOLD) y no agudizadores (A y B de GOLD). Además, existen otras variables como la pérdida de peso corporal o el criterio clínico de bronquitis crónica.

1.5 TRATAMIENTO

1.5.1 MEDIDAS GENERALES.

1.5.1.1 Deshabitación tabáquica. La supresión del tabaco constituye la principal medida para evitar el desarrollo y frenar la progresión de la EPOC. Es la única medida eficaz que previene el deterioro de la función pulmonar y aumenta la supervivencia (1). En aquellos pacientes con un grado moderado o elevado de dependencia nicotínica es preciso tratar la dependencia tabáquica como una enfermedad crónica. En estos casos se aconseja introducir el tratamiento sustitutivo con parches de nicotina, bupropión o vareniclina (47).

1.5.1.2. Vacunas. Se recomienda, en pacientes con EPOC, la administración anual de la vacuna antigripal que previene las infecciones reduce el número de hospitalizaciones y la mortalidad durante los periodos epidémicos. También, se recomienda la vacuna neumocócica para prevenir neumonías, tanto la conjugada como la 23-Valente (1).

1.5.1.3. Ejercicio físico. La inactividad física es un factor que puede desarrollar un empeoramiento de los pacientes con EPOC, asociándose a disminución de la función pulmonar y mayor mortalidad (48). En cambio, en los pacientes con EPOC, la actividad física mejora significativamente la calidad de vida y disminuye el número de hospitalizaciones y la mortalidad (38,48,49). Se recomienda caminar al menos 30 minutos al día.

1.5.1.4. Ejercicios de fisioterapia. La rehabilitación respiratoria es una intervención que consiste en el entrenamiento respiratorio, movilización de las extremidades y de la pared torácica, técnicas de respiración controlada, inhalación y expectoración. Es una intervención que mejora las condiciones físicas y psicológicas de los pacientes con EPOC realizando su salud. Además, produce efectos muy ventajosos sobre la función endotelial y la rigidez arterial que reducen la disnea, aumentan la capacidad para realizar ejercicio y mejora la calidad de vida (38,47,50).

1.5.1.5. Medicación de rescate. Se pueden utilizar inhaladores de acción corta como el salbutamol o terbutalina o inhaladores anticolinérgicos/antimuscarínicos, de acción un poco más prolongada, que bloquean los receptores M2 y M3 relajando el músculo liso. Estos medicamentos de rescate se utilizan cuando hay sensación de disnea (47).

1.5.2 TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE MANTENIMIENTO. Se utilizan 2 tipos de terapias farmacológicas, los broncodilatadores y los antiinflamatorios.

1.5.2.1. Broncodilatadores de larga duración. Los antagonistas muscarínicos de larga acción (LAMA) como el tiotropin, gliopirronio y aclidinio y los agonistas β -adrenérgicos, también de larga acción (LABA) como indacaterol, formoterol y salmeterol, se utilizan en pacientes GOLD 1 y GOLD2. El tratamiento con estos fármacos mejora los síntomas, eleva la FEV1 aumentando la función pulmonar y la tolerancia al esfuerzo y disminuye el número de exacerbaciones induciendo una mejor calidad de vida. También se puede utilizar la teofilina por vía oral, que mejora los síntomas y el número de exacerbaciones (51).

1.5.2.2. Antiinflamatorios. Los pacientes con EPOC, tipo GOLD 3 y GOLD 4, muestran inflamación de las vías aéreas y una seria disfunción endotelial, el tratamiento con corticoides inhalados puede regenerar fisiológicamente dichos procesos. Los corticoides inhalatorios se utilizan en pacientes con alto riesgo de exacerbaciones y cuando muestran un % de eosinófilos > de 100.

Se pueden utilizar inhibidores de la fosfodiesterasa 4 (roflumilast) en pacientes con exacerbaciones y con bronquitis crónica. También se pueden usar macrólidos y acetilcisteína pero solo en fumadores. Todos estos fármacos disminuyen el número de exacerbaciones y mejoran la calidad de vida (47,51,52).

2. ABSORCIÓN INTESTINAL DE CALCIO

El calcio juega un papel importante a lo largo de la vida. La acumulación de calcio en la primera década de la vida permite alcanzar una masa ósea óptima y posteriormente, durante las siguientes etapas de la vida, mantener la masa corporal siendo un constituyente esencial para muchos procesos fisiológicos, desde las señales intracelulares a la mineralización del hueso (53,54).

La mayor parte del calcio de la dieta, aproximadamente 1 g/día, procede de la leche y productos lácteos, verduras y espinas del pescado. Solamente se absorbe entre un 25-35% del calcio ingerido (55,56). La absorción intestinal de calcio es un proceso esencial para mantener el balance de calcio y la salud ósea, ocurre en los enterocitos del duodeno y yeyuno proximal por 2 vías distintas, un transporte activo por vía transcelular y un transporte pasivo por vía paracelular (57).

La absorción de calcio por vía transcelular se inicia por un canal catiónico denominado TRPV6 (receptor del potencial transitorio vaniloide) localizado en la membrana apical del

enterocito, posteriormente el calcio se une a una proteína citoplasmática, calbindina-D 9K, que facilita su difusión entre los polos del enterocito (Figura 3). La calbindina-D 9k y el canal TRPV6 están asociados, ya que la calbindina-D 9k modula la entrada de calcio a través del canal (58,59).

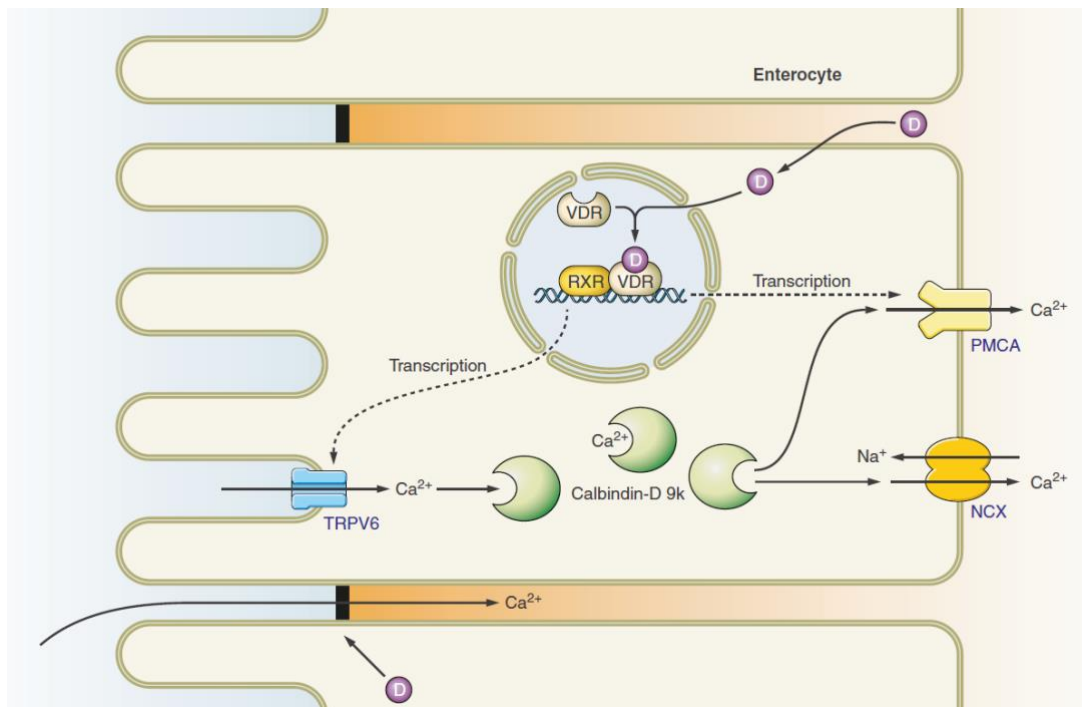


Figura 3. Absorción de calcio en el intestino proximal.

Una vez que el calcio alcanza la membrana basolateral sale hacia el espacio extracelular por medio de 2 proteínas, una denominada PMCA1b (ATPasa calcio dependiente) y un intercambiador electroneutral $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ (NCX), que utiliza la energía almacenada en el gradiente del sodio para transportar calcio fuera del enterocito (56,60). La PMCA1b es la principal proteína implicada en la salida de calcio del enterocito, en cambio NCX es solo responsable de la salida del 20% de calcio desde el intestino al plasma (54). La vitamina D estimula la absorción transcelular de calcio por aumentar las expresiones de TRPV6 , calbindina-D 9k y PMCA1b (59).

El movimiento de molécula e iones a través de la vía paracelular se regula por las uniones estrechas, que son estructuras especializadas localizadas en la región apical del enterocito formadas por proteínas denominadas ocludina y claudinas. El transporte de calcio a través de las uniones estrechas es un proceso pasivo mediado por las claudinas 2,12, y 15 y predomina en el yeyuno cuando el consumo de calcio es elevado (61). La vitamina D también facilita la absorción paracelular de calcio (59).

3. ABSORCIÓN DE FOSFATO

El fósforo se distribuye más extensamente que el calcio y está implicado en distintas funciones biológicas jugando un papel crítico en la mineralización esquelética (62). El fósforo de la dieta, aproximadamente 1 g/día, procede de los cereales, carnes y aditivos de los alimentos, en general se encuentra como ión fosfato. Su absorción tiene lugar en el duodeno distal utilizando mecanismos dependientes y no dependientes del calcio, absorbiéndose entre un 60-80% del fósforo ingerido.

El fósforo entra a través de la membrana apical del enterocito facilitado por un cotransportador fosfato/ Na^+ y sale hacia el plasma a través de la membrana basolateral mediado por la ATPasa Na^+/K^+ dependiente. La vitamina D estimula la absorción de fosfato (62).

En el túbulo proximal renal, aproximadamente, el 80% del fosfato filtrado es reabsorbido desde la orina bajo una dieta de fosfato normal. El transporte de fosfato a través del epitelio del túbulo proximal se realiza por un cotransportador con Na^+ (NPT2). Esta reabsorción de fosfato se regula por varios factores incluyendo FGF23, PTH y Vitamina D (Figura 4). El FGF23 y la PTH promueven la pérdida renal de fosfato al disminuir la actividad del cotransportador NPT2. La vitamina D incrementa la expresión de FGF23 en los osteocitos y por lo tanto estimula la pérdida renal de fosfato (58,59).

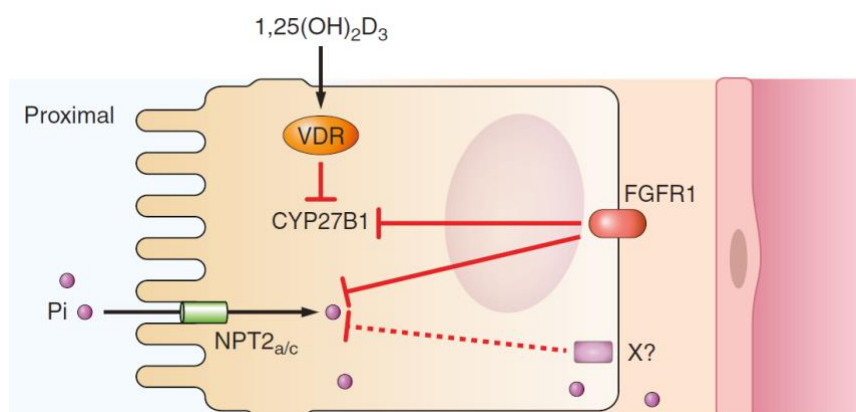


Figura 4. Reabsorción de fosfato en el túbulo proximal renal (adaptación).

4. HOMEOSTASIS DEL CALCIO

La eucalcemia se mantiene por el esfuerzo concertado de la vitamina D, la PTH y, en menor grado, por la calcitonina. Las tres hormonas influyen en la concentración sérica de calcio por actuar sobre el intestino, el riñón o el hueso (56). La 1,25 (OH)₂ vitamina D, metabolito activo de la vitamina D, y la PTH son los principales reguladores de la homeostasis del calcio que actúan sobre sus órganos diana aumentando las

concentraciones plasmáticas de calcio (Figura 5). Además de las hormonas reguladoras que influyen en la absorción, excreción y depósito de calcio, nuestro cuerpo necesita un mecanismo que nos permita sentir los niveles momentáneos del calcio plasmático. Esta tarea la lleva a cabo los receptores sensibles al calcio (CaSR).

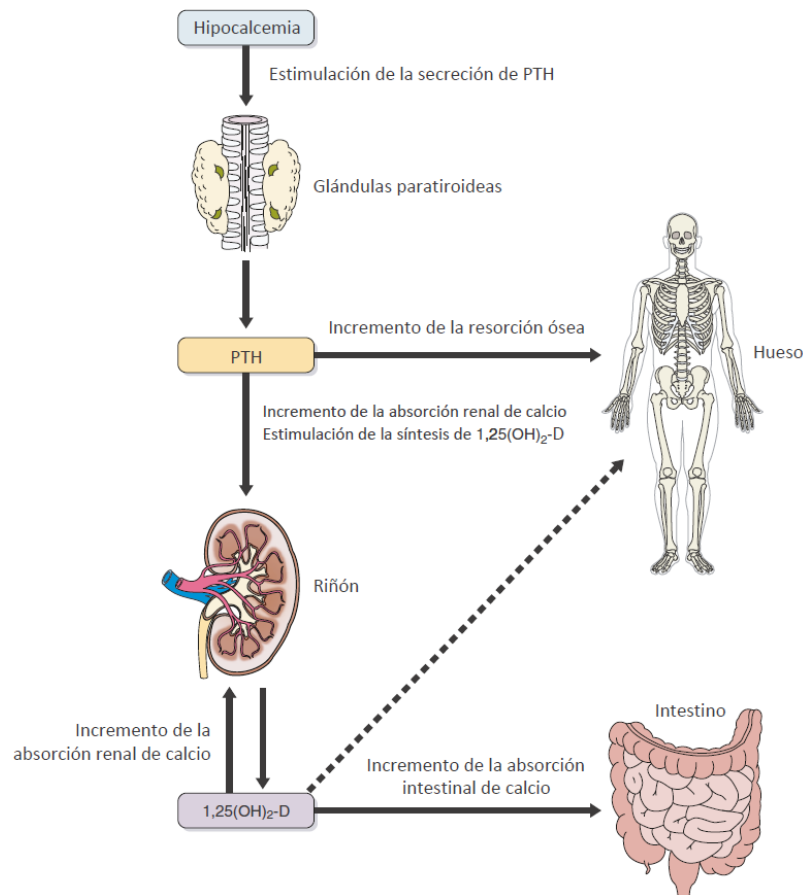


Figura 5. Regulación endocrina de los niveles plasmáticos de calcio.

4.1 VITAMINA D

Nuestro organismo tiene 2 fuentes de vitamina D, una fuente procede de la dieta, alimentos como las frutas, vegetales y setas que contienen vitamina D2 o ergocalciferol mientras que los productos lácteos, huevos, carnes y pescado graso son ricos en vitamina D3 o colecalciferol. La segunda fuente proviene de la síntesis cutánea, es decir de tipo endógeno, y depende de la exposición a la radiación ultravioleta de la luz que cataliza la síntesis de vitamina D3 en la piel (Figura 6). La radiación ultravioleta de tipo B (290-315 nm) convierte el 7-dehidrocolesterol, localizado en la membrana plasmática de los queratinocitos, en provitamina D3 que posteriormente se isomeriza a vitamina D3 (63). La absorción de vitamina D es muy importante en aquellas regiones del mundo donde no hay mucho sol o presentan largos periodos de oscuridad.

La absorción de vitamina D3 procedente de la dieta se realiza en la parte proximal y media del intestino delgado mediada por las micelas y por un mecanismo similar al de los lípidos. Una vez en el interior del enterocito, la vitamina D3 se empaqueta en los quilomicrones pasando al sistema linfático (59).

Independientemente de la fuente (endógena o exógena), la vitamina D3 se une a la proteína DBP (proteína que une vitamina D) que la conduce al torrente sanguíneo alcanzando el hígado donde se metaboliza a 25-OH-vitamina D3 por medio de la 25-hidroxilasa mitocondrial y del retículo endoplasmático (CYP27A1). Siguiendo su síntesis la 25-OH-vitamina D3 se une a la DBP y el complejo se dirige al riñón donde es filtrado por el glomérulo renal y retirado de la orina primaria por las células epiteliales del túbulo proximal mediante un proceso de endocitosis, proceso mediado por la proteína megalina (64). En el túbulo renal proximal, la 25-OH-vitamina D3 se convierte en 1,25-(OH)₂-vitamina D, forma activa de la vitamina D, mediante otra hidroxilasa mitocondrial (CYP27B1) (65).

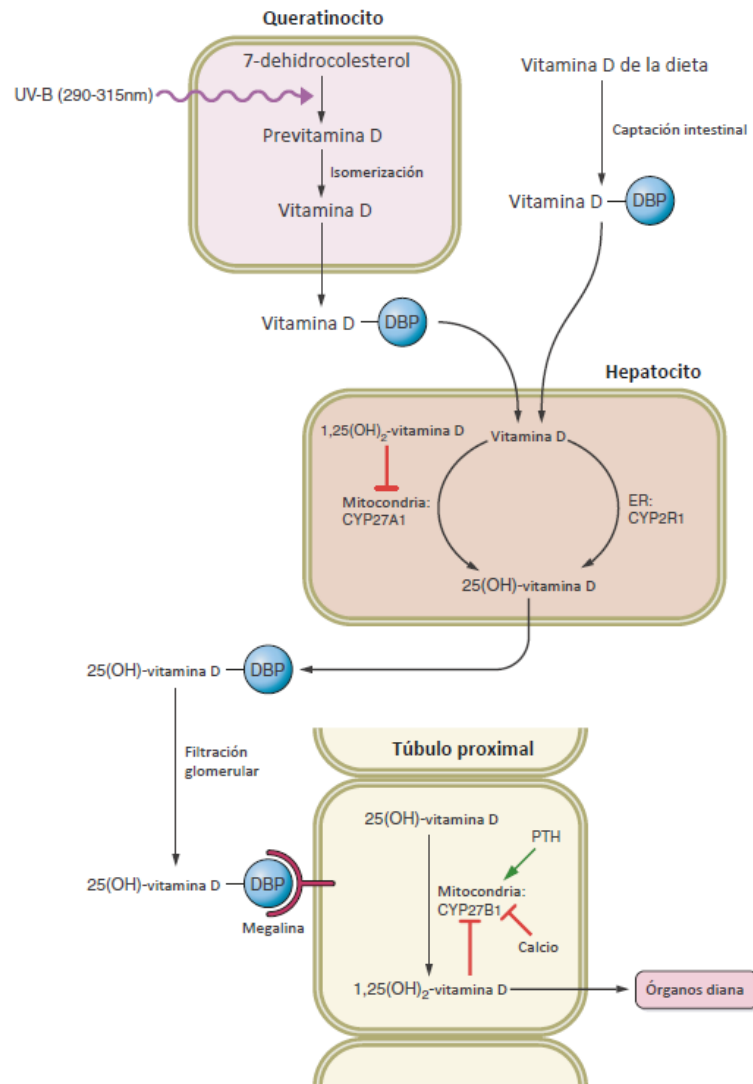


Figura 6. Metabolismo de la vitamina D.

La actividad de CYP27B1 está sujeta a una estrecha regulación hormonal. El regulador clave de la síntesis de 1-25-(OH)₂-vitamina D es la PTH, secretada por la glándula paratiroidea en respuesta a las bajas concentraciones de calcio plasmático en un esfuerzo para aumentar la captación de calcio y liberar calcio del hueso hacia la circulación. La 1-25-(OH)₂ vitamina D reprime a CYP27A1 y CYP27B1 y se controla negativamente por su propio producto (66,67). Además, existe un mecanismo de retroalimentación negativo de la 1-25-(OH)₂ vitamina D sobre la actividad de CYP27A1. El factor de crecimiento de los fibroblastos 23 (FGF23) liberado por los osteoblastos y osteocitos inhibe la actividad de CYP27B1 y por tanto disminuye la síntesis renal de 1-25-(OH)₂ vitamina D (68,69).

4.1.1 EFECTOS CELULARES DE LA VITAMINA D. Las acciones biológicas de la forma activa de la vitamina D están mediadas por el receptor nuclear VDR, receptor de la vitamina D. VDR pertenece a la familia de los receptores esteroideos como los receptores del ácido retinoico, hormonas tiroideas, hormonas sexuales y esteroides adrenales. La 1-25-(OH)₂ vitamina D actúa sobre 3 órganos diana, al unirse a los receptores nucleares VDR, el intestino delgado donde favorece la absorción de calcio, el riñón donde reabsorbe calcio y el hueso donde favorece la liberación de calcio. El resultado final es el aumento de la concentración plasmática de calcio (Figura 7).

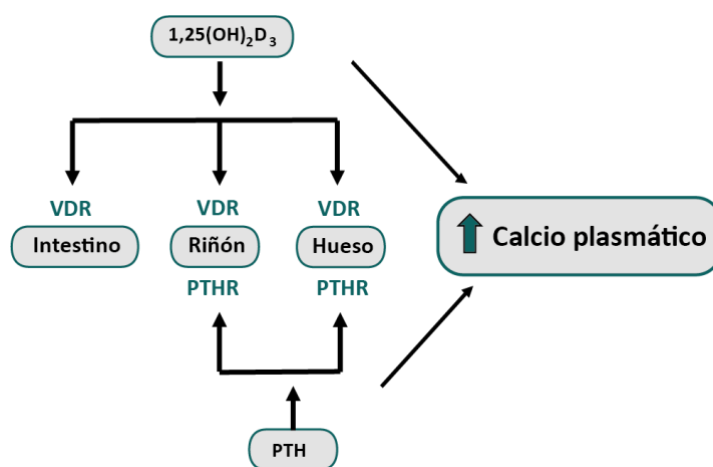


Figura 7. Control del calcio plasmático por la 1-25-(OH)₂ vitamina D y PTH.

Cuando la 1-25-(OH)₂ vitamina D se une al receptor nuclear VDR, este se heterodimeriza con el receptor X del ácido retinoico (RXR). El complejo VDR-RXR inicia la transcripción y expresión del canal TRPV6, de la calbindina D 9k y de la ATPasa PMCA1b favoreciendo la absorción de calcio transcelular. Además, la 1-25-(OH)₂ vitamina D puede modular la captación de calcio por vía paracelular. El resultado final es el aumento del calcio plasmático (70).

El riñón no solo es el principal lugar de síntesis de 1-25-(OH)₂ vitamina D, sino que también representa un órgano diana de la 1-25-(OH)₂ vitamina D. El riñón actúa como regulador de la homeostasis del calcio al reabsorber calcio de la orina primaria. La mayoría del calcio que se filtra por el glomérulo se reabsorbe en el túbulo proximal y distal, solamente aparece en orina el 1-2% del calcio filtrado. Aproximadamente, el 65% del calcio se reabsorbe pasivamente en el túbulo proximal por vía paracelular e independientemente de la 1-25-(OH)₂ vitamina D. En cambio, en el túbulo distal se reabsorbe por un mecanismo activo transcelular parecido a la absorción intestinal de calcio y regulado por la 1-25-(OH)₂ vitamina D y PTH, en un esfuerzo para elevar el calcio plasmático (59,71).

El modelo consiste en una entrada de calcio a través de un canal TRPV5, su unión a las Calbindina D 9k y Calbindina D 28k citoplasmáticas y salida del calcio al fluido extracelular por la ATPasa PMCA1b y el intercambiador NCX (Figura 8).

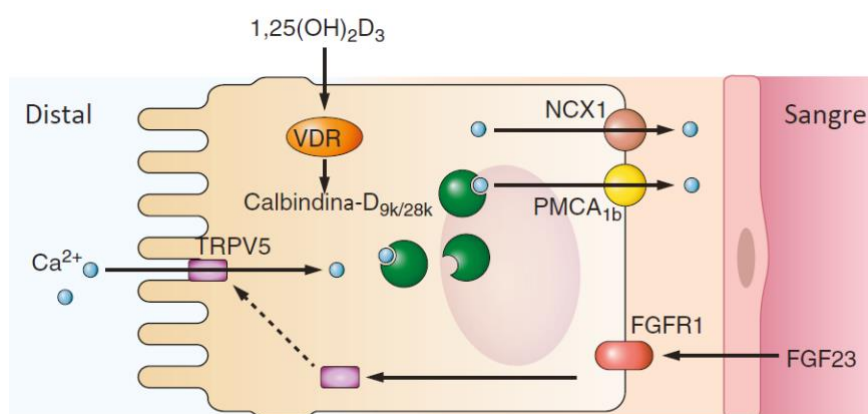


Figura 8. Reabsorción renal de calcio en el túbulo distal.

El hueso es un tejido muy dinámico sometido a un remodelado continuo a través de la vida mediante un balance entre la formación ósea por los osteoblastos y una resorción ósea por los osteoclastos, con el fin de mantener la masa ósea corporal. La formación ósea implica la mineralización de la matriz extracelular formada por los osteoblastos.

Existen evidencias de que la 1-25-(OH)₂ vitamina D influye directamente en la formación ósea. Aunque, los VDR se expresan en los osteoblastos, osteoclastos y condrocitos, la mayoría de los efectos directos de la 1-25-(OH)₂ vitamina D son mediados por los osteoblastos (72). Se ha demostrado que la 1-25-(OH)₂ vitamina D promueve la diferenciación de los osteoblastos de las *stem cells* mesenquimales y regula la síntesis de diversas proteínas osteoblásticas, tales como osteocalcina, fosfatasa alcalina, colágeno I, osteopontina y RANKL (ligando del receptor activador del factor nuclear κ B) (73,74).

En situaciones de un balance negativo de calcio, cuando el consumo o la absorción intestinal es menor que la pérdida renal de calcio, se produce una movilización del calcio

del hueso para preservar sus niveles séricos (Figura 9). En este proceso se activa la señalización de los VDR de los osteoblastos elevando los niveles plasmáticos de 1-25-(OH)₂ vitamina D y PTH, las cuales aumentan la resorción y reducen la mineralización ósea para mantener la normocalcemia. La señalización de los VDR en los osteoblastos controla la expresión de RANKL, un importante factor osteoclastogénico, que se une a su receptor RANK en los precursores de los osteoclastos aumentando la formación de los osteoclastos y su acción (58,59,75). En ese balance negativo de calcio, la 1-25-(OH)₂ vitamina D inhibe la mineralización de la matriz ósea al aumentar los niveles de expresión de pirofosfato (PPi) y osteopontina, ambos potentes inhibidores de la mineralización (59).

Durante un balance normal o positivo de calcio, los niveles normales de 1-25-(OH)₂ vitamina D promueven la absorción intestinal de calcio y la mineralización ósea al disminuir la expresión de RANKL.

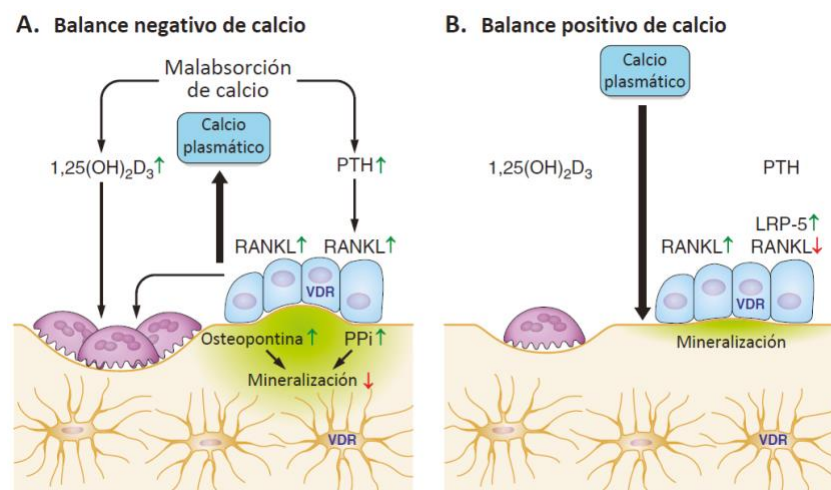


Figura 9. Efectos esqueléticos de la 1-25-(OH)₂ vitamina D y PTH.

El FGF23 es una hormona ósea expresada en los osteoblastos y osteocitos que actúa sobre los receptores FGFR 1, 3 o 4 a nivel renal inhibiendo la reabsorción de fosfato al disminuir la expresión de su cotransportador Na⁺ dependiente (Figura 4) y, además, suprime los niveles circulantes de 25-(OH) vitamina D al inhibir su síntesis renal y estimular su catabolismo (76,77).

Durante el proceso de envejecimiento, a menudo se observa un balance negativo de calcio que se puede explicar por un menor consumo de calcio de la dieta o por una disminución de la absorción intestinal de calcio con la edad debido a la menor expresión de los VDR, que conlleva a menor expresión del canal TRPV6 y de la calbindina D 9k (70,78). Además, existe una deficiencia de la 1-25-(OH)₂ vitamina D debido a su menor síntesis a nivel renal. Así, el efecto combinado de una disminución de la absorción intestinal de calcio y una disminución en la habilidad del riñón para sintetizar 1-25-(OH)₂ vitamina D contribuye a la pérdida de masa ósea relacionada con la edad.

Se ha sugerido que la pobre absorción de calcio, en la vejez, se debe a una reducción de los niveles circulantes de 25-(OH) vitamina D así como una resistencia intestinal a la misma (79). Otros estudios sugieren que el incremento de FGF23 puede ser un evento inicial para suprimir la síntesis de 1-25-(OH)₂ vitamina D asociada a un deterioro de la función renal (69).

4.2 PTH

La hormona paratiroidea o PTH es un polipéptido de 84 aminoácidos sintetizada y secretada por la glándula paratiroidea. El gen de la PTH codifica un precursor hormonal (prepro PTH) de 115 aminoácidos, que es escindido enzimáticamente en 2 pasos para dar lugar a la forma secretada y madura de 84 aminoácidos. La secuencia amino terminal es esencial para el correcto procesamiento y movimiento (80,81).

La PTH madura se almacena en vesículas de secreción y se libera a la circulación en respuesta a las bajas concentraciones de calcio plasmático, señal principal para la secreción de PTH. La regulación de la secreción de PTH es extremadamente rigurosa para mantener la concentración de calcio entre 1,1-1,3 mM. Para alcanzar este control la glándula paratiroidea está equipada de receptores extracelulares ultrasensibles, los CaSR, que constantemente monitorizan los niveles plasmáticos de calcio y disparan distintas señales intracelulares para secretar PTH (Figura 10). La PTH se encuentra muy regulada, a través de un mecanismo de retroalimentación negativo, por la 1-25-(OH)₂ vitamina D (82,83).

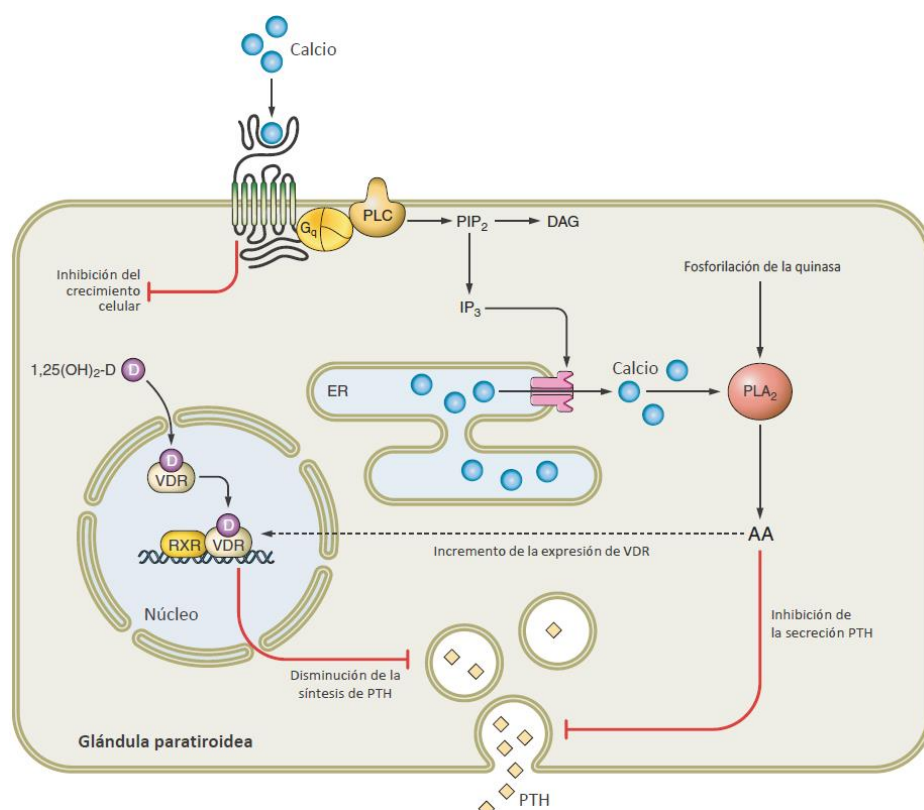


Figura 10. Control de la síntesis y secreción de PTH por la 1-25-(OH)₂ vitamina D y CaSR.

La PTH ejerce sus efectos fisiológicos actuando sobre receptores PTHR1, receptor de membrana acoplado a una proteína G (GPCR). No obstante, los receptores PTHR1 también se localizan a nivel del núcleo celular.

4.2.1 EFECTOS CELULARES DE LA PTH. La PTH ejerce sus efectos fisiológicos en 2 órganos diana: riñón y hueso.

La PTH causa fosfaturia, aumenta la absorción de calcio e induce la síntesis de 1-25-(OH)₂ vitamina D. La fosfaturia se produce por una regulación negativa del transportador Na⁺/Pi en la membrana apical del túbulo proximal, reduciendo la cantidad de fosfato reabsorbido de la orina primaria (84,85).

La PTH estimula, a nivel renal, la síntesis de 1-25-(OH)₂ vitamina D, en consecuencia, realiza la captación intestinal y renal de calcio en un esfuerzo para contrarrestar la hipocalcemia, la cual inició la PTH. La PTH regula positivamente la transcripción de CYP27B1, enzima responsable de convertir la 25-OH vitamina D₃ en su forma activa 1-25-(OH)₂ vitamina D (66,67).

A parte de inducir la síntesis de 1-25-(OH)₂ vitamina D, la PTH puede directamente regular la reabsorción renal de calcio en los segmentos distales de la nefrona, principalmente en el túbulo contorneado distal y túbulo colector, por procesos de transporte activo mediado por TRPV5, calbindina D 28k y NCX (78,86,87).

La PTH ejerce un efecto dicotómico en el hueso dependiendo del modelo de exposición. La exposición intermitente de PTH tiene efectos anabólicos sobre la masa ósea, mientras que la exposición continua incrementa el calcio plasmático por catabolismo óseo (Figura 11).

La administración intermitente de PTH realiza la formación del hueso debido a un incremento en el número de osteoblastos mediante la inducción de la diferenciación de estos y a la inhibición de la apoptosis (88-90). Esta observación del efecto de la administración intermitente ha llevado a la utilización de la PTH como tratamiento estratégico para la osteoporosis (91,92).

Por otra parte, la exposición continua de PTH afecta principalmente a la diferenciación y a la activación de los osteoclastos, de este modo aumenta el *turnover* óseo. Este efecto catabólico de la PTH se trasmite por medio de señales procedentes de los osteoclastos. La relación entre los osteoblastos y osteoclastos está mediada por los receptores nucleares RANKL, la osteoprotegerina (OPG) y el receptor de RANKL (RANK). RANKL Y OPG se expresan en los osteoblastos y ejercen acciones opuestas sobre los osteoclastos. Así, la continua exposición de PTH produce una regulación positiva de RANK y una concomitante

supresión de OPG, y RANKL cuando se une RANK en los osteoclastos promueve la osteoclastogénesis (93-95). La interacción estimulada RANKL-RANK induce proliferación de los osteoclastos, realiza la resorción ósea y eleva los niveles de calcio plasmático.

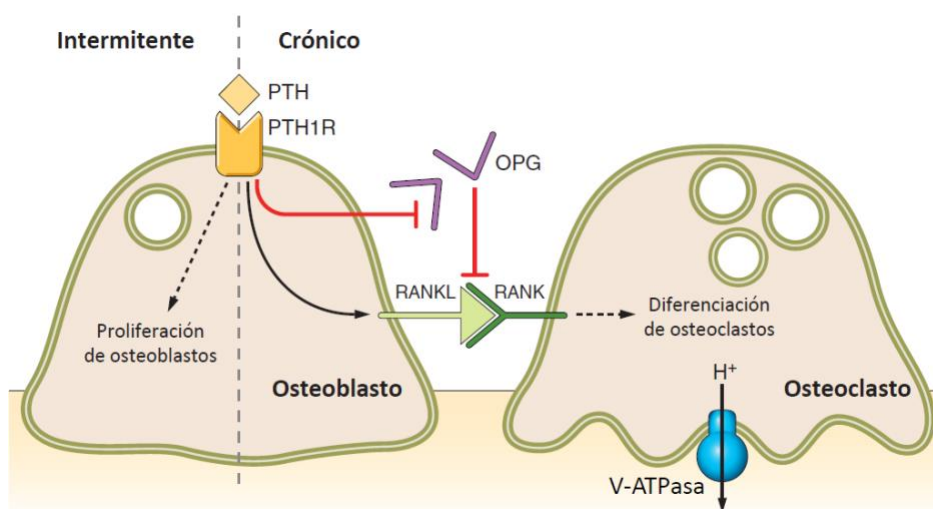


Figura 11. Efectos de la PTH sobre el hueso.

4.3 CaSR

El CaSR es un receptor de membrana acoplado a una proteína G que es un sensor primario para el calcio actuando como el primer enlace en la regulación de la cadena de la homeostasis del calcio. Así, el CaSR preside la cascada jerárquica de la síntesis de 1-25-(OH)₂ vitamina D y la captación de calcio en sus órganos diana, intestino delgado, riñón y hueso (96-98).

La activación del CaSR, por un aumento del calcio plasmático, inhibe la liberación de PTH y de este modo baja los niveles de calcio. El CaSR también modula la síntesis de PTH, así la unión de la 1-25-(OH)₂ vitamina D a su receptor nuclear VDR causa una disminución en el mRNA de la prepro PTH creando un mecanismo de retroalimentación negativo. El incremento en el calcio plasmático puede potenciar el efecto inhibitorio de la 1-25-(OH)₂ vitamina D. Este efecto está mediado por el CaSR, cuya activación puede disminuir la transcripción de la PTH al aumentar el efecto inhibitorio de la 1-25-(OH)₂ vitamina D (56,99).

El CaSR actúa como un importante regulador de la homeostasis iónica y del agua a nivel renal, y puede ejercer sus efectos sobre el transporte de calcio independientemente de otros reguladores hormonales, tales como la 1-25-(OH)₂ vitamina D y la PTH. En el túbulo proximal, el CaSR estimula la absorción de fosfato y la síntesis de 1-25-(OH)₂ vitamina D, que pueden revertir los efectos de la PTH cuya función es disminuir la absorción de fosfato. Inversamente, la PTH y los elevados niveles de fosfato sérico reducen la expresión del

CaSR. Además, es probable que el CaSR medie los efectos del calcio sobre la síntesis de 1-25-(OH)₂ vitamina D en el túbulo proximal (100,101).

En la porción gruesa del asa ascendente de Henle, el CaSR inhibe los canales de K⁺, de este modo inhibe el reciclado de K⁺ y a su vez inhibe la captación de Ca⁺⁺ por vía paracelular (102). Aunque se ha establecido que el CaSR se expresa en los osteoblastos y osteoclastos, no se conoce aún su significado fisiológico en el hueso.

5. ANÁLISIS DEL METABOLISMO ÓSEO

El remodelado óseo puede valorarse directamente mediante histoformometría a partir de una biopsia ósea, o bien, de forma indirecta, mediante la determinación de diferentes constituyentes de la sangre y la orina, denominados marcadores bioquímicos del remodelado óseo, que son enzimas u otras proteínas secretadas por las células óseas o bien productos que se originan durante la formación o degradación del colágeno tipo 1, principal proteína de la matriz orgánica del hueso.

En la práctica asistencial diaria, la valoración del metabolismo óseo se realiza mediante la determinación del calcio, excreción de calcio en orina de 24 horas, fósforo, PTH, 25(OH) vitamina D y marcadores de remodelado óseo tales como P1NP, β-CrossLaps o Fosfatasa Alcalina Ósea (FAO), para la valoración del seguimiento del paciente (103). En los estudios de investigación, de manera específica, pueden analizarse otras variables implicadas en la regulación del remodelado óseo como la esclerostina, OPG y RANKL (Figura 12).

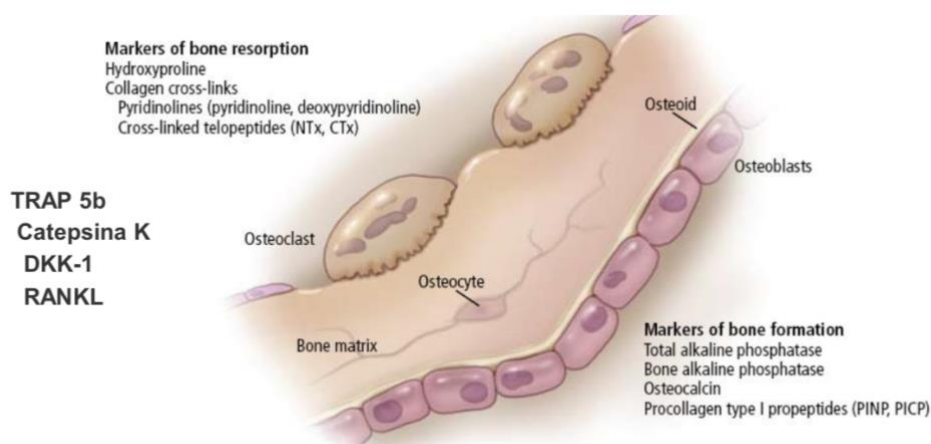


Figura 12. Biomarcadores de formación y resorción ósea

5.1 FOSFATASA ALCALINA ÓSEA

La FAO es una enzima sintetizada por los osteoblastos y utilizada como marcador de la formación ósea. En caso de que no pueda utilizarse la FAO se usa la Fosfatasa alcalina total, la utilizada en la rutina asistencial, pero es inespecífica debido a la presencia de isoenzimas en otros órganos. En condiciones normales las 2 isoenzimas fundamentales son la hepática y la ósea, por lo que en ausencia de desórdenes hepáticos la fosfatasa alcalina se puede utilizar por bajo coste y sencillez en su determinación (104)). En la actualidad, existen métodos inmunológicos para cuantificar la isoenzima ósea con una pequeña reacción cruzada (8%) con la isoenzima hepática.

5.2 MARCADORES DERIVADOS DEL COLÁGENO TIPO 1

El colágeno tipo 1 es el más abundante (>50%), del 50 al 70% se encuentra en el hueso constituyendo el 90% de la matriz ósea. También se encuentra en la piel, dentina, tendones y ligamentos. La actividad metabólica del colágeno tipo 1 del tejido óseo es superior a la de los tejidos blandos, por lo que las concentraciones circulantes de sus metabolitos reflejan con mayor probabilidad el metabolismo del colágeno óseo.

La triple hélice del colágeno está formada por 2 cadenas α , α_1 y α_2 . Una vez formada la triple hélice del procolágeno se transporta a la superficie celular y se excreta. Una vez fuera de la célula los propéptidos carboxilo y amino terminales (PICP y P1NP) se liberan por acción de la procolágeno-peptidasa. Debido a su tamaño, forma y carga eléctrica estos propéptidos no se eliminan por la orina y se eliminan vía sanguínea hepática, por lo tanto, no se alteran en la insuficiencia renal. Debido a que estos propéptidos se liberan durante el proceso de formación de las fibras de colágeno, se consideran marcadores de formación. El propéptido más sensible y específico es el propéptido amino terminal del procolágeno tipo 1 (P1NP) y se correlaciona con más estudios histomorfométricos (104).

Cuando los osteoclastos reabsorben el hueso, secretan distintas proteasas que degradan la matriz colágena a fragmentos moleculares circulantes que contienen piridinolinas, aminoácidos libres o segmentos amino o carboxilo terminales de las fracciones telopeptídicas del colágeno. El telopéptido carboxilo terminal β -CTX o β -CrossLaps, es un péptido de 8 aminoácidos de la cadena α_1 del colágeno, que participa en la formación de un puente piridinolínico. Existe una β -isomerización que permite utilizar estos fragmentos modificados como marcadores más específicos para el recambio óseo.

En la actualidad existe un consenso por el cual los marcadores de elección para el remodelado óseo son el P1NP y β -CrossLaps debido a una mayor sensibilidad y especificidad, así como a una mejor capacidad de automatización (105,106).

6. EPOC Y METABOLISMO ÓSEO

Como hemos comentado anteriormente, los marcadores del remodelado óseo derivan de proteína secretadas por los osteoblastos, como la FAO, marcador de formación ósea, y RANK, marcador de resorción ósea. Aunque también esos marcadores pueden derivar del colágeno, como el P1NP, marcador de formación ósea o β -CrossLaps, marcador de resorción ósea.

Estudios recientes han revelado un papel de los osteocitos en la regulación del remodelado óseo (107,108). Los osteocitos actúan como mecanosensores que detectan y responden a estímulos mecánicos y hormonales para coordinar la formación y la resorción ósea, regulando la actividad de los osteoblastos y osteoclastos (109).

Los osteocitos producen FGF23, RANKL y esclerostina que afectan a la homeostasis ósea, controlando la actividad de los osteoblastos y osteoclastos. Así, FGF23 regula la homeostasis del fósforo, RANKL activa a los osteoclastos y la esclerostina inhibe la formación ósea (110-112).

La esclerostina, codificada por el gen SOST, es un potente inhibidor de la formación ósea secretada exclusivamente por los osteocitos maduros, que inhibe la diferenciación y actividad de los osteoblastos al unirse a una proteína relacionada con el receptor de la lipoproteína (LRP) 5 y 6, y estimula la apoptosis de los osteoblastos (111). En un estudio poblacional se ha observado que los niveles de esclerostina eran significativamente más elevados en las personas mayores y en hombres, cuando se comparaban con personas jóvenes y mujeres. Además, en esas personas mayores se observó una asociación positiva entre la esclerostina y la DMO sugiriendo que la esclerostina podría ser un potencial biomarcador de la osteoporosis (113). La esclerostina juega un importante papel en el metabolismo óseo y podría ser una prometedora diana como terapia para la osteoporosis.

La pérdida ósea es una consecuencia muy común en los pacientes con EPOC. La osteoporosis es un desorden esquelético caracterizado por una resistencia ósea comprometida y un mayor riesgo de fracturas, las cuales dependen de la resistencia ósea, determinada por la DMO y la calidad ósea. La osteoporosis es un factor prevalente y una de las principales comorbilidades de la EPOC.

Un hallazgo común en pacientes con EPOC es una baja masa ósea y la aparición de fracturas de fragilidad. Estas complicaciones se relacionan directa o indirectamente con distintos factores de riesgo, tales como inflamación sistémica, consumo de tabaco, deficiencia en vitamina D y tratamiento con glucocorticoides orales o inhalados (9,114,115). Todas estas complicaciones tienen un impacto muy significativo sobre la calidad de vida, actividad diaria, función respiratoria y posiblemente sobre su pronóstico (116).

La prevalencia de osteopenia, osteoporosis y fracturas óseas es más elevada cuanto mayor es la severidad de la EPOC. Así, estudios recientes han mostrado que el 58% de los pacientes con EPOC presentaban menor densidad óseo-mineral (117). Se ha observado, también, que aquellos pacientes con menor DMO presentaban menor grado de mineralización de la matriz ósea (115).

6.1 FACTORES DE RIESGO DE LA OSTEOPOROSIS EN LA EPOC

Evidencias clínicas indican que la osteoporosis y otras comorbilidades de la EPOC se asocian con factores de riesgo generales y también con factores de riesgo específicos de la enfermedad (Tabla 1) (8,10,116,118).

6.1.1 FACTORES GENERALES. La edad avanzada y el tabaquismo son factores generales y comunes de riesgo en la EPOC. El consumo de tabaco es un factor de riesgo establecido para las fracturas osteoporóticas, pero tiene un efecto moderado sobre la DMO (119,120). La pérdida de peso corporal es frecuente en la EPOC, particularmente en los estados avanzados de la enfermedad y se asocia con una pobre prognosis. En general, IMC viene determinado por la DMO y el riesgo de fracturas y, por otra parte, el riesgo de fracturas asociado al IMC es dependiente en su mayor parte de la DMO (121).

GENERALES	ESPECÍFICOS
Edad avanzada Tabaquismo Bajo BMI Actividad física reducida	Inflamación sistémica Disfunción pulmonar Uso de glucocorticoides Deficiencia/Insuficiencia de Vitamina D

Tabla 1. Factores de riesgo de la osteoporosis en la EPOC.

Se ha observado una relación positiva entre la adiposidad, expresada como índice de masa grasa, y el estado óseo-mineral en pacientes con EPOC no obesos. Además, los

niveles plasmáticos de leptina se asocian positivamente con la DMO en pacientes con EPOC obesos, pero no en pacientes con EPOC no obesos. Estos estudios apoyan la noción de que la leptina puede jugar un papel protector directo sobre el metabolismo óseo en pacientes obesos y con EPOC (122).

La caquexia en la EPOC severa se atribuye a la inflamación sistémica por elevados niveles de citoquinas inflamatorias, tales como el TNF α , y a un estrés oxidativo elevado (123).

La sobrecarga mecánica del hueso es crítica para mantener la masa ósea y su integridad, mientras que la actividad física reducida es un factor osteoporótico en la población general. Se ha demostrado que la actividad física se correlaciona positivamente con la DMO en pacientes con EPOC (124,125), y que la DMO de la cadera se correlaciona negativamente con la severidad de la EPOC (126).

6.1.2 FACTORES ESPECÍFICOS. Los procesos fisiopatológicos de la EPOC se caracterizan por infiltración de células inflamatorias en la mucosa, submucosa y tejido glandular produciendo hiperplasia epitelial y engrosamiento de la pared de las vías aéreas.

La inflamación crónica y el desequilibrio entre distintas proteasas y sus inhibidores causan alteraciones en la reparación tisular que conlleva a estrechamiento, obliteración y destrucción de los bronquiolos terminales (8). En la lesión epitelial inducida por el humo del tabaco se liberan citoquinas inflamatorias, tales como IL-1, IL-8 y TNF α , y se reclutan gran cantidad de células del sistema inmune. Estas citoquinas activan a los osteoclastos favoreciendo la resorción ósea (127,128), sugiriendo que la inflamación en la EPOC empobrece la calidad del hueso.

La hipercapnia y la hipoxia tienen impactos significativos sobre el metabolismo óseo y pueden predisponer a los pacientes con EPOC a la osteoporosis, particularmente en pacientes no tratados o con EPOC severo (129). Distintos estudios han demostrado una correlación del FEV1 y/o los estados GOLD avanzados con una menor DMO, que en parte está mediada por el IMC (126,130,131).

El exceso de glucocorticoides es una causa secundaria de osteoporosis, que se desarrolla de manera dosis dependiente y que se caracteriza por supresión en la formación ósea y riesgo de fracturas (132). En pacientes con EPOC se ha observado que la inhalación de corticosteroides se asocia a un significativo riesgo de fracturas que son dosis dependiente (133). El efecto general de la inhalación de corticoides parece depender del balance entre el beneficio de su efecto antiinflamatorio local y el riesgo de fracturas causado por su efecto sistémico.

La insuficiencia o deficiencia en vitamina D reduce la absorción intestinal de calcio, deteriora la calcificación esquelética y causa pérdida ósea con un mayor riesgo de fracturas (134). Se ha demostrado que la deficiencia en vitamina D es un factor altamente prevalente en la EPOC. Además, los niveles de 25-(OH) vitamina D son más bajos en los estados avanzados de la enfermedad sugiriendo un nexo entre la severidad de la EPOC y la deficiencia en vitamina D (9,136,137). Se ha observado, también, que en pacientes con EPOC la 25-(OH) vitamina D se correlaciona con la DMO y que su déficit aumenta el riesgo de osteoporosis (133).

6.2 TRATAMIENTO

Debido a la carencia de evidencias específicas en pacientes con EPOC, se necesita una guía práctica para el tratamiento de la osteoporosis asociada a la EPOC. Sin embargo, puede haber algunas consideraciones específicas (Tabla 2). Entre ellas se encuentran las modificaciones del estilo de vida como dejar de fumar, dieta saludable y ejercicio que son beneficiosos para los pacientes con EPOC. En particular, el ejercicio físico mejora las condiciones generales de los pacientes y aumenta significativamente la DMO (137-140).

MODIFICACIONES DEL ESTILO DE VIDA	TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO
<p>Cese del tabaquismo</p> <p>Forma física/Ejercicio</p>	<p>Calcio y Vitamina D</p> <p>Bifosfonatos</p> <p>Denosumab</p> <p>Teriparatide</p> <p>SERMs</p>

Tabla 2. Tratamiento de la osteoporosis en la EPOC.

Se recomienda, como intervenciones farmacológicas, el consumo de calcio y vitamina D con o sin tratamiento con fármacos antiosteopóroticos. Otros fármacos utilizados con considerable seguridad son los bifosfonatos, teriparatide, denosumab y los SERMs (moduladores selectivos del receptor de estrógenos) (141-143).

7. HORMONAS METABÓLICAS IMPLICADAS EN LA EPOC Y EN LA INMUNIDAD

Se ha sugerido que la vitamina D tiene efectos protectores y beneficiosos sobre las enfermedades pulmonares incluyendo la EPOC (144). Así, en un estudio muy reciente se ha observado que los pacientes con EPOC tratados con vitamina D mejoran su función pulmonar (FEV1, FEV1/FVC y T6MM) y reducen la frecuencia de la exacerbación aguda, el volumen del esputo y el grado CAT (145).

La vitamina D, también, ejerce una función importante en la inmunidad general, pues existen evidencias de que puede controlar la proliferación bacteriana, como es el caso de

Mycobacterium tuberculosis en monocitos humanos (146), e inhibir la multiplicación de los bacilos tuberculosos en macrófagos humanos (147). El mecanismo de acción molecular de la vitamina D sobre esas bacterias se realiza a través de la inducción de péptidos antimicrobianos humanos, tales como la catelicidina y la β -2 defensina (148). Para que exista una adecuada liberación de catelicidina y β -2 defensina es necesario niveles normales de vitamina D, ya que la hipovitaminosis limita la síntesis y liberación de dichos agentes antimicrobianos (149).

La señalización mediada por el sistema 1-25-(OH)₂ vitamina D-VDR produce efectos inmunomoduladores potentes, básicamente antiinfecciosos y autoinmunitarios, tanto de la inmunidad innata como de la adaptativa. En la actualidad, esta interacción tan compleja comienza a comprenderse (150).

Existen diversos estudios epidemiológicos, ensayos clínicos y modelos experimentales que establecen un papel inmunomodulador y regulador de la vitamina D sobre el crecimiento celular. Se ha demostrado una relación entre la hipovitaminosis D y las infecciones de las vías aéreas, la gripe, la tuberculosis pulmonar, distintas neumonías, el asma bronquial, diversos aspectos de la EPOC, las bronquiectasias, el cáncer de pulmón, la fibrosis quística, la hipertensión y fibrosis pulmonar (151).

La hipovitaminosis D en enfermos pulmonares podría no ser el factor iniciador o potenciador de la enfermedad sino simplemente un mero biomarcador del estado general del enfermo (151).

El FGF23 regula el metabolismo del fosfato debido a que aumenta la excreción renal de fosfato y disminuye los niveles circulantes de 25-(OH) vitamina D (152,153). Sin embargo, los pacientes con EPOC muestran hipofosfatemia sugiriendo una alteración en el metabolismo del fosfato (154). Recientemente, se ha observado que pacientes con EPOC muestran bajas concentraciones plasmáticas de FGF23, PTH y fosfato sugiriendo que el FGF23 y la PTH reaccionan a cambios de la homeostasis del fosfato. Es decir, los pacientes con EPOC presentan un desorden de las hormonas reguladoras del metabolismo del fosfato (155).

Diversos estudios han propuesto a la vitamina D como un posible biomarcador para la EPOC (144,145,156,157), mientras que otros, que evalúan el papel de la vitamina D en la EPOC, muestran resultados controvertidos (158,159). Así, en un nuevo estudio (160) de pacientes con EPOC, se demostró que la función pulmonar (FEV1 y FVC) se relaciona inversamente con los niveles plasmáticos de PTH, y sin embargo no se observa una asociación significativa entre la función pulmonar y los niveles de vitamina D. El aumento de la PTH se asocia a la severidad de la EPOC indicando que esta hormona puede ser un mejor biomarcador para esta enfermedad.

HIPÓTESIS

Diversos parámetros pulmonares funcionales y biológicos se encuentran alterados en la EPOC, especialmente en aquellos pacientes con una enfermedad más severa. En este trabajo intentamos conocer cuáles de esos parámetros tienen un mejor valor pronóstico para el número de ingresos y la calidad de vida.

OBJETIVOS

1. OBJETIVOS GENERALES

El objetivo fundamental del estudio es cuantificar los principales parámetros pulmonares funcionales y biológicos en pacientes de la Comunidad de Cantabria diagnosticados de EPOC, y conocer cuáles de ellos presentan un mejor valor pronóstico para el ingreso de estos enfermos.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir las características antropométricas de los pacientes con EPOC.
- Evaluar sus principales parámetros pulmonares funcionales.
- Analizar distintos parámetros biológicos, la mayoría de ellos implicados en el metabolismo fosfocálcico, en los pacientes con EPOC.
- Estudiar la correlación entre los distintos parámetros del metabolismo fosfocálcico de los pacientes.
- Evaluar el valor pronóstico de las distintas variables clínicas y biológicas para el número de ingresos.
- Estudiar la relación de las principales variables biológicas con el número de ingresos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realiza un estudio prospectivo observacional en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV) de Santander. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación de Cantabria (CEIC) y se ha obtenido por escrito el consentimiento informado de los pacientes participantes. Se adjunta en los anexos la aprobación del CEIC y el documento que describe el consentimiento informado de los pacientes.

1. DISEÑO DEL ESTUDIO. El objetivo de esta investigación es realizar un estudio prospectivo para determinar las características y los factores de riesgo de los pacientes diagnosticados de EPOC evaluando sus características antropométricas, clínicas y biológicas, durante el seguimiento de la enfermedad.

2. SELECCIÓN DE LOS PACIENTES. Se han seleccionado 175 pacientes diagnosticados de EPOC de entre 41 y 82 años, con tratamiento de broncodilatadores de base y una relación FEV1/FVC <70%, que se reclutaron durante su seguimiento regular en las consultas externas de Neumología. Se revisaron las historias clínicas entre diciembre de 2019 y febrero de 2020. El seguimiento en la consulta y el análisis de las muestras de sangre se realizaron durante todo el periodo del estudio por 2 facultativos especialistas del HUMV (161).

Criterios de inclusión: Se incluyeron pacientes diagnosticados de EPOC. Se determinó la función pulmonar por espirometría después de administrar un broncodilatador, 400 mg de salbutamol, y se calculó la FEV1 y FVC, según los criterios de la SEPAR (162). La espirometría se repitió 20 minutos más tarde. Aquellos pacientes con una relación FEV1/FVC < 0,7% y con una mejoría menor de 200 ml o del 12% del valor de referencia fueron diagnosticados de EPOC e incluidos en el estudio.

Criterios de exclusión: Se excluyeron aquellos pacientes diagnosticados de insuficiencia renal o con un valor de creatinina > 1,2 mg/dl. También se excluyeron los pacientes que presentaban valores de ALT > 50 mg/dl y/o GGT > 130 mg/dl. Dos pacientes no completaron el estudio.

Finalmente, después de revisar las historias clínicas, se incluyeron en el estudio 154 pacientes.

3. RECOGIDA DE DATOS. Se realizó mediante la revisión de las historias clínicas o por una entrevista concertada en las consultas de neumología. Se anotaron las siguientes variables antropométricas y clínicas.

- Edad, peso, talla, IMC y el índice de masa libre de grasa (FFMI), el cual se calculó mediante la fórmula $FFMI = \frac{\text{Peso total (Kg)} - \text{Peso de masa grasa (Kg)}}{\text{talla (m}^2\text{)}}$, utilizando un dispositivo de impedancia bioeléctrica (BF511, Omrom, Kioto).
- Hábito tabáquico, saturación de oxígeno y número de agudizaciones e ingresos.
- Cuestionario de la calidad de vida y prueba de valoración de la EPOC (CAT).
- FEV1, FVC y FEV1/FVC.
- Grado de disnea mMRC y criterios de bronquitis crónica.
- Test de la marcha en 6 minutos (T6MM), que se realizó siguiendo el protocolo de la Sociedad Torácica Americana (163). Esta prueba consiste en que los pacientes caminen, en la medida de lo posible, durante 6 minutos a lo largo de un pasillo de 30 metros de largo sin interrupciones. Se registra la distancia recorrida y el grado de disnea que mostró el paciente.
- Índice de Charlson. Relaciona la mortalidad a largo plazo con la comorbilidad del paciente. En general, se considera ausencia de comorbilidad 0-1 puntos, comorbilidad baja 2 puntos y alta > de 3 puntos.

4. DETERMINACIONES ANALÍTICAS. En todos los pacientes, en ayunas, se tomaron las muestras de sangre de forma sistémica, entre las 8.00-9.00 horas de la mañana. Se extrajeron muestras de sangre en tubos de vacío siliconados con filtro de gel de sílice sin anticoagulante para obtener el suero y el plasma, y determinar la bioquímica general (en relación con su proceso asistencial) y parámetros hormonales específicos del estudio. Los tubos se mantuvieron antes, durante y después de la extracción, a una temperatura entre 12-20°C. Todas las muestras se procesaron antes de que transcurriera una hora desde su extracción. Para la obtención del suero las muestras se dejaron coagular durante 20-30 minutos, posteriormente se centrifugaron a 2000 g y a temperatura ambiente. Los tubos con EDTA, para la obtención del plasma se centrifugaron inmediatamente a 2000 g. Las determinaciones bioquímicas generales se analizaron el mismo día de la extracción. El suero y el plasma utilizados para las determinaciones específicas se alicuotaron y se congelaron a -80°C hasta su posterior procesamiento.

Las determinaciones de la rutina asistencial (creatinina, albúmina, calcio, magnesio, fósforo, fosfatasa alcalina total y PTH) se realizaron de manera automatizada en un

equipo Atellica de Siemens (Siemens Health Care Diagnostics) Los niveles de calcio total se corrigieron con las concentraciones de la albúmina.

La 25-OH-vitamina D sérica se analizó mediante un método de inmunoensayo competitivo directo por quimioluminiscencia, determinando cuantitativamente el total de 25(OH) D (D2+D3) y utilizando un equipo Liaison® XL Analyzer (DiaSorin, Stillwater, Minnesota, USA), con una sensibilidad de 4 ng/ml y una especificidad del 100%. La reproductibilidad intra e interensayo es <8 % y <12%, respectivamente. El valor de suficiencia fue >20 ng/ml.

La fosfatasa alcalina ósea se cuantificó mediante un ensayo inmunológico específico (ELISA) determinando la actividad de la fosfatasa alcalina de origen óseo (METRA, Metra Biosystems, MountainView, CA, USA). En esta técnica existe una reacción cruzada del 100% con la forma ósea, 3-8% con la forma hepática, del 0% con la forma placentaria y de 0,4% con la forma intestinal. La reproductibilidad intra e interensayo es de 3,5% y 6,2%, respectivamente. Los valores normales para mujeres es 10-22 U/L y para los hombres de 12-23 U/L.

El FGF23 se analizó mediante un inmunoensayo específico de doble anticuerpo (ELISA) de Immunotopics International. Su sensibilidad fue de 1,5 pg/ml con una reproductibilidad intra e interensayo <10%.

La cuantificación sérica de la esclerostina se realizó mediante ensayo inmunológico específico (ELISA) de alta sensibilidad (TECOS Sclerostin HS ELISA). La sensibilidad de la técnica es de 1 ng/ml. La reproductibilidad intra e interensayo es de 3,5% y 6,2%, respectivamente. Los valores normales son: mujeres premenopáusicas $26,25 \pm 10,23$ ng/ml, mujeres postmenopáusicas $39,37 \pm 9,8$ ng/ml y hombres $36,93 \pm 9,79$ ng/ml.

Los marcadores de remodelado óseo (P1NP y β -CrossLaps) se realizaron mediante inmunoensayo específico quimioluminiscente automatizado en un iSYS (IDS-iiSYS Multi-Discipline Automated Analyser, Pouilly-en Auxois, France). Sensibilidad: 0,14 ng/ml para P1NP y 0,03 ng/ml para β -CrossLaps. La reproductibilidad intraensayo eran <10% y <15%, respectivamente y la reproductibilidad interensayo fue <5% y <8%, respectivamente. Los valores esperados de P1NP para hombres fue de 21-78 ng/ml y para mujeres de 19-102 ng/ml. Los valores normales para β -Crosslaps son: 0,115-0,748 ng/ml para hombres, 0,112-0,738 ng/ml para mujeres premenopáusicas y 0,142-1,351 ng/ml para mujeres postmenopáusicas.

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO. Las variables paramétricas se representan como la media \pm desviación típica y las no paramétricas como la mediana y los intervalos intercuartílicos entre los percentiles 25-75. Los datos de las distintas variables se ajustaron a una

distribución normal mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. La correlación entre las distintas variables biológicas se realizó mediante el coeficiente de correlación de Spearman.

El valor pronóstico de las variables antropométricas, clínicas y biológicas para el número de ingresos se evaluó de acuerdo con el modelo de regresión multivariante de Cox y calculando la relación Hazard e intervalos de confianza.

El nivel de significación estadístico se estableció en $p < 0.05$.

Todo el análisis estadístico se realizó mediante la versión 25.00 del programa estadístico SPSS Software (IBM) para PC.

RESULTADOS

Para este estudio se seleccionaron 175 pacientes diagnosticados de EPOC de las consultas externas de neumología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV). De ellos, 2 no completaron el estudio y 19 se excluyeron del estudio por diferentes causas, 9 por tener valores elevados de γ -glutamyl transpeptidasa (GGT), 2 por tener valores elevados de alanina aminotransferasa (ALT) y 8 por mostrar valores de creatinina mayores de 1,2 mg/dl. Finalmente, se incluyeron en el estudio 154 pacientes de los que el 66,3% eran varones.

Las características antropométricas de los pacientes se muestran en la Tabla 3 y los valores de las pruebas funcionales pulmonares se detallan en la Tabla 4.

Edad (años)	66,3 \pm 9,0
Varones (%)	68,8
Mujeres (%)	31,2
Peso corporal (kg)	75,9 \pm 16,1
Talla (m)	1,65 \pm 0,1
IMC (kg/m ²)	27,3 \pm 6,2
FFMI (kg/m ²)	18,7 \pm 2,6

Tabla 3. Características antropométricas de pacientes con EPOC en el estudio, N=154. Los resultados se muestran como la media \pm desviación típica. IMC: Índice de masa corporal. FFMI: Índice de masa libre de grasa.

FVE1 (ml)	1.619 \pm 1.011
FEV1 (%)	60,2 \pm 21,1
FVC (ml)	3.022 \pm 983
FVC (%)	93,6 \pm 19,6
FVE1/FVC (%)	48,7 \pm 14,0
Disnea mMRC	1,23 \pm 0,80
T6MM (m)	419,9 \pm 108,2
CAT	11,6 \pm 8,5
Índice de Charlson	5,2 \pm 2,1

Tabla 4. Parámetros pulmonares funcionales de pacientes con EPOC en el estudio, N=154. Los resultados se muestran como la media \pm desviación típica. FEV1: Volumen espirado forzado en el primer segundo. FVC: Capacidad vital forzada. mMRC: Consejo de investigación médico modificado. T6MM: Prueba de 6 minutos de marcha. CAT: Prueba de valoración de la EPOC.

En la Tabla 5 se muestran los valores no paramétricos de las distintas variables biológicas, indicando el número de datos, la media y los intervalos de cada variable comprendidos entre los percentiles 25-75.

	<u>N</u>	
25-(OH) Vitamina D (ng/ml)	153	17,6 (10 - 24)
PTH (pg/ml)	153	43,5 (25,5 - 51)
FGF23 (pg/ml)	129	48,9 (35,3 - 58,8)
Fosfatasa alcalina (U/L)	152	77,2 (62 - 86,7)
Fosfatasa alcalina ósea (U/L)	128	15,3 (11,7 - 18,1)
Albúmina (g/dl)	152	4,5 (4,1 - 4,4)
Esclerostina (pmol/L)	63	26,1 (19,6 - 30,5)
Creatinina (mg/dl)	118	0,75 (0,67 - 0,86)
P1NP (ng/ml)	153	47,2 (27,6 - 51,3)
β-Crosslaps (pg/ml)	153	1,52 (0,10 - 0,23)
PCR (mg/dl)	148	0,96 (0,10 - 0,86)
Calcio total corregido (mg/dl)	152	10,5 (9,2 - 9,6)
Fósforo (mg/dl)	153	3,42 (2,9 - 3,7)
Magnesio (mg/dl)	153	2,10 (1,9 - 2,1)

Tabla 5. Parámetros biológicos de pacientes con EPOC en el estudio. Los resultados se muestran como valores no paramétricos. Se indica la mediana y los intervalos de la variable, entre paréntesis, comprendidos entre los percentiles 25-75. N= número de datos. P1NP: Propéptido amino terminal del procolágeno tipo 1. β-CrossLaps: Telopéptido carboxilo terminal del colágeno tipo 1. PCR: Proteína C reactiva.

En la Tabla 6 se detallan las correlaciones entre los distintos parámetros biológicos, indicando el coeficiente de correlación de Spearman (r) y la significación estadística.

Parámetros	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1. FGF23 (129)	-													
2. Esclerostina (63)	r= 0,11	-												
3. FAO (128)	r= -0,01	0,11	-											
4. Creatinina (110)	r= 0,21 p<0.05	0,50 p<0.01	-0,30	-										
5. PTH (129)	r= 0,07	-0,04	0,23 p<0.01	0,07	-									
6. Vitamina D (129)	r= 0,16	0,06	-0,15	0,06	-0,17 p<0.05	-								
7. FA (128)	r= -0,11	0,01	0,68 p<0.01	-0,08	0,18 p<0.05	0,16 p<0.05	-							
8. Albúmina (128)	r= 0,02	-0,06	0,03	-0,01	-0,18 p<0.05	-0,03	-0,04	-						
9. Calcio correg. (128)	r= 0,03	0,05	0,06	0,09	-0,19 p<0.05	-0,06	-0,01	0,14	-					
10. Fósforo (129)	r= 0,11 p<0.01	-0,45 p<0.01	0,02	-0,24 p<0.01	-0,03	-0,10	0,21 p<0.05	0,10	0,07	-				
11. Magnesio (129)	r= -0,14	-0,05	0,11	0,04	0,18 p<0.05	-0,04	0,22 p<0.01	0,02	0,01	0,13	-			
12. P1NP (129)	r= -0,10	-0,08 p<0.01	0,51	-0,08	0,10	-0,06	0,34 p<0.01	0,01	0,04	0,16	0,16	-		
13. β-CrossLaps (129)	r= 0,03	-0,10 p<0.01	0,54	0,04	0,16	-0,06	0,31 p<0.01	-0,07	0,05	0,32	0,27	0,64	-	
14. PCR (125)	r= -0,07	-0,24	-0,03	0,02	0,14	-0,07	0,31 p<0.01	-0,11	-0,05	0,15	0,01	-0,10	-0,10	-

Tabla 6. Matrices de correlación para los distintos parámetros biológicos en pacientes con EPOC. r= coeficiente de correlación de Spearman. Entre paréntesis se muestran el número de datos. El nivel de significación se estableció en p<0.05. FAO: Fosfatasa alcalina ósea. FA; Fosfatasa alcalina. P1NP: Propéptido amino terminal del procolágeno tipo 1. β-CrossLaps: Telopéptido carboxilo terminal del colágeno tipo 1. PCR: Proteína C reactiva.

Las correlaciones significativas entre determinadas variables biológicas se pueden observar en la Figura 13, donde se realiza un esquema indicando si esas correlaciones son positivas o negativas. La vitamina D se relaciona negativamente con la PTH y con la fosfatasa alcalina, mientras que la PTH se asocia negativamente con el calcio corregido y positivamente con la fosfatasa alcalina y la FAO. Se observa una correlación positiva entre dos marcadores del remodelado óseo, P1NP y β -CrossLaps. La esclerostina se correlaciona negativamente con el fósforo.

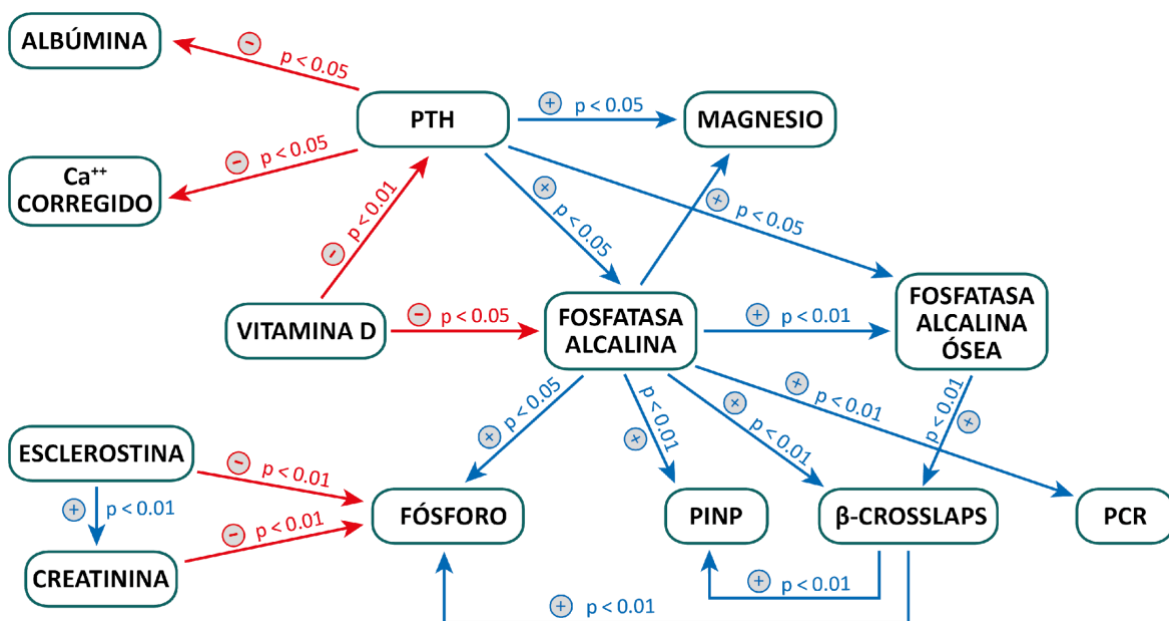


Figura 13. Modelo estructural de las correlaciones significativas entre las distintas variables biológicas en pacientes con EPOC. Las flechas azules indican una correlación positiva y las flechas rojas una correlación negativa. El nivel de significación se estableció en $p < 0.05$. . P1NP: Propéptido amino terminal del procolágeno tipo 1. β -CrossLaps: Telopéptido carboxilo terminal del colágeno tipo 1. PCR: Proteína C reactiva.

El valor pronóstico de distintos parámetros antropométricos, clínicos y biológicos para el número de ingresos en pacientes con EPOC se muestra en la Tabla 7. El valor pronóstico se calculó de acuerdo con el modelo de regresión multivariante de Cox. Esta regresión de Cox revela que la disnea mMRC y los niveles plasmáticos elevados de PTH se asocian a un peor pronóstico. En la Tabla 7, también se han calculado la relación Hazard y los intervalos de confianza.

	B	p	Hazard Ratio	95% IC
Edad	0,93 - 1,05	-0,013	0,663	0,99
Sexo	0,70 - 5,61	0,683	0,199	1,98
25-(OH) Vitamina D	0,18 - 1,8	-0,504	0,359	0,58
Riesgo de agudizaciones	0,44 - 3,32	0,187	0,717	1,21
Índice de Charlson	0,84 - 1,22	0,012	0,904	1,01
Disnea mMRC	1,15 - 4,13	0,781	0,016	2,18
FEV1	0,99 - 1,00	-0,001	0,130	0,99
PTH baja	0,15 - 0,87	-1,034	0,024	0,36

Tabla 7. Valor pronóstico de variables clínicas y biológicas para el número de ingresos en pacientes con EPOC, de acuerdo con el modelo de regresión de Cox. El nivel de significación se estableció en $p < 0.05$.

En la Figura 14, se muestra las curvas del modelo de regresión de Cox, teniendo en cuenta la relación Hazard y los intervalos de confianza, para los ingresos de los pacientes con EPOC. Se puede observar que elevadas concentraciones plasmáticas de PTH se asocian a un mayor número de ingresos. El tiempo total del estudio duró 480 días.

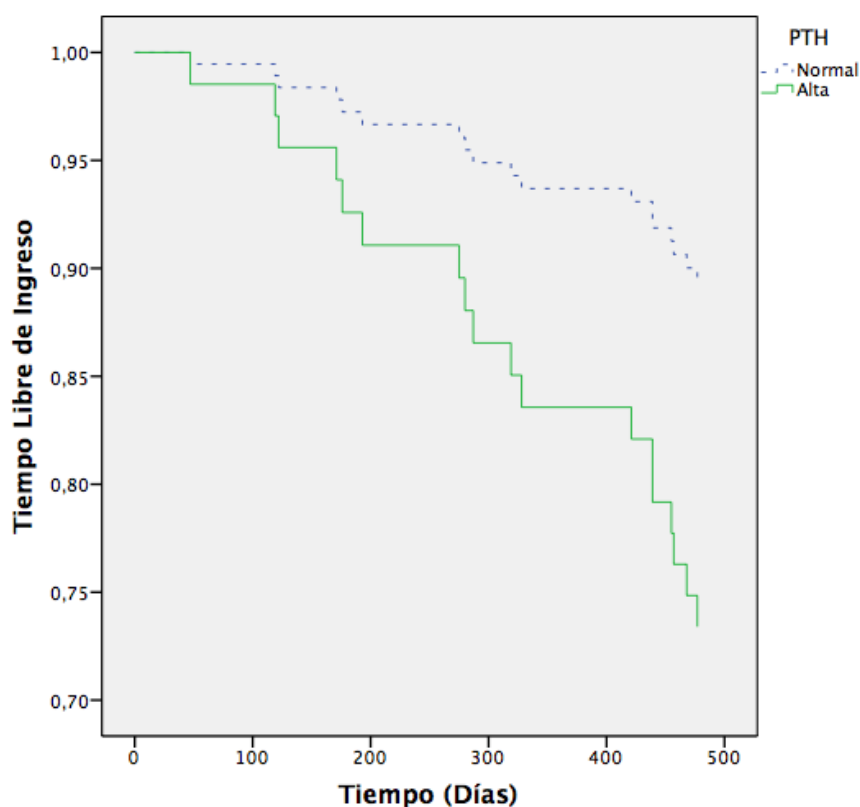


Figura 14. Curva del modelo de regresión de Cox que muestra la proporción de pacientes con EPOC, libres de ingresos, con niveles plasmáticos normales o elevados de PTH, estudiados durante 480 días. El nivel de significación estadístico se estableció en $p < 0.05$

DISCUSIÓN

La EPOC se caracteriza por una serie de cambios fisiopatológicos iniciados y agudizados principalmente por la inhalación del humo del tabaco induciendo una inflamación de las vías aéreas que producen cambios estructurales dando lugar a la obstrucción pulmonar y síntomas respiratorios en las vías aéreas (3,30,31). Se han utilizado distintos mediadores inflamatorios como biomarcadores para valorar los factores de riesgo y la severidad de la EPOC (41,42). Una mejor comprensión de las patologías de las alteraciones sistémicas en la EPOC puede mejorar las estrategias terapéuticas.

Un hallazgo común en los pacientes con EPOC es una baja densidad ósea y la aparición de fracturas de fragilidad, complicaciones que se relacionan con distintos factores de riesgo, tales como la inflamación sistémica, consumo de tabaco, deficiencia en vitamina D, alteraciones en las concentraciones de PTH y en distintos enzimas que controlan el balance del metabolismo óseo, así como el tratamiento con glucocorticoides (9,114,115). Todas estas complicaciones tienen un impacto muy significativo sobre la función respiratoria, la calidad de vida y un mal pronóstico de la enfermedad, con mayor número de agudizaciones y de ingresos hospitalarios (116,117).

La vitamina D y la PTH, se encuentran implicadas en la EPOC. Así, existen estudios que sugieren que la vitamina D presenta efectos protectores y beneficiosos sobre la EPOC, al mejorar su función pulmonar y reducir el número de exacerbaciones (144,145). Además, se ha mostrado que la vitamina D juega un importante papel inmunomodulador sobre el crecimiento celular y sobre diversos aspectos de la EPOC (150).

Recientemente se ha observado que pacientes con EPOC muestran bajas concentraciones séricas de FGF23, PTH y fosfato, sugiriendo que tanto el FGF23 como la PTH reaccionan a cambios en la homeostasis del fosfato e indicando que estos pacientes presentan un desorden de las hormonas reguladoras del metabolismo del fosfato (155).

En nuestro trabajo hemos descrito las variables antropométricas (Tabla 3), hemos calculado distintos parámetros pulmonares funcionales (Tabla 4) y hemos realizado las correlaciones de las distintas variables biológicas (Tabla 6 y Figura 13) en los pacientes con EPOC. La vitamina D se correlaciona negativamente con la PTH y con la fosfatasa alcalina, una asociación que explica un funcionamiento normal del metabolismo fosfocálcico en los pacientes incluidos en el estudio, teniendo en cuenta el control negativo de la PTH sobre la vitamina D. Mientras que la PTH, además de correlacionarse negativamente con la vitamina D, también se asocia negativamente con el calcio total corregido. Sin embargo, la PTH se asocia positivamente con la fosfatasa alcalina y la FAO.

Por otra parte, la fosfatasa alcalina se asocia positivamente con distintas variables biológicas implicadas en la regulación del metabolismo óseo, tales como la PTH, la FAO, el fósforo, el P1NP y β -CrossLaps.

El β -CrossLaps, biomarcador de resorción ósea, se asocia positivamente con el P1NP y la FAO, biomarcadores de formación ósea, y también con el fósforo. En cambio, la esclerostina, un inhibidor de la formación ósea, solamente se asocia negativamente con el fósforo, sugiriendo un posible papel en la excreción del mismo. Sin embargo, un estudio muy reciente (164) muestra que la esclerostina se correlaciona negativamente con la PTH, el P1NP y β -CrossLaps y positivamente con la vitamina D. Esta diferencia de resultados puede ser debido al reducido número de datos para la esclerostina de nuestro estudio.

En el presente trabajo hemos evaluado el valor pronóstico de diferentes parámetros antropométricos, clínicos y biológicos para el número de ingresos en pacientes con EPOC, revelando que la disnea mMRC y los niveles elevados de PTH se asocian a un peor pronóstico (Tabla7). La PTH elevada se relaciona con un mayor número de ingresos (Figura 14). Estos resultados están de acuerdo con los observados recientemente (162), en los que se demuestra que los elevados niveles séricos de PTH se relacionan inversamente con la función pulmonar acentuando la severidad de la EPOC, y sugiriendo que la PTH podría ser un biomarcador de la enfermedad.

De nuestras observaciones podemos concluir que la PTH puede ser utilizada como un mejor biomarcador para predecir un mayor número de ingresos.

Dada la complejidad de la EPOC sería necesario proponer una medicina de precisión aproximada para entender y mejorar el tratamiento de esta enfermedad. Es posible utilizar análisis biológicos multiómicos como una herramienta para integrar todas las variables antropométricas, clínicas y biológicas (165).

Por último, quisiera reseñar que el estudio observacional mediante la revisión de las historias clínicas de nuestros pacientes con EPOC finalizó en febrero de 2020. Debido a las comorbilidades y a los factores de riesgo de estos pacientes, sería muy interesante revisar de nuevo las historias clínicas para comprobar las consecuencias y los daños sufridos en nuestros pacientes durante y post-pandemia del virus SARS-CoV-2.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

- El estudio se llevó a cabo en un solo centro localizado en una región con una prevalencia alta de déficit de vitamina D en su población.
- No se ha tenido en cuenta el consumo de alcohol de los pacientes. El consumo de alcohol altera las concentraciones séricas de fosfatasa alcalina y actúa negativamente en la progresión de la EPOC.
- El número de casos puede ser limitado para obtener conclusiones contundentes. Además, el número de variables biológicas analizadas no es uniforme, oscilando entre 63 y 153. (Tabla 5)
- Un problema importante es conocer si las variables pulmonares y sistémicas de la EPOC son el resultado de un mecanismo patogénico común o si las alteraciones clínicas y biológicas son manifestaciones relacionadas con la senescencia.

FORTALEZAS DEL ESTUDIO

- El estudio se realizó en un grupo muy heterogéneo de un área metropolitana extensa pero centralizado en un solo hospital de referencia (300.000 habitantes).
- Para el estudio de los pacientes con EPOC se incorporaron nuevas variables biológicas implicadas en la regulación del metabolismo óseo.
- Se ha desarrollado un modelo multidimensional que integra los factores antropométricos, clínicos y biológicos en las manifestaciones sistémicas de los pacientes con EPOC.

CONCLUSIONES

1. En nuestra cohorte de pacientes las correlaciones entre los distintos metabolitos del metabolismo fosfocálcico son las que se producen en condiciones fisiológicas
2. La disnea mMRC y la PTH se relacionan con un peor pronóstico, y la PTH se asocia a un mayor número de ingresos y tiempo de hospitalización.
3. La PTH puede ser utilizada como un biomarcador para predecir mayor número de ingresos.

ANEXOS

HOJA CONSENTIMIENTO INFORMADO

Apreciado/a Sr/a 

Su médico le invita a participar en un estudio que lleva por título: Protocolo de Estudio de Factores Socio-económicos asociados a Reingreso de pacientes con EPOC. Estudio FASERPOC.

Este estudio lo llevará a cabo el/la investigador/a:

.....

El estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética de la Investigación de este centro y cumple los requisitos habituales como la declaración de Helsinki y la Ley española 14/2007 de Investigación Biomédica y otros. La obtención de sangre venosa y su manejo en este proyecto de acuerdo también cumple con el Real Decreto 62/2006.

Antes de confirmar su participación en el estudio de investigación, es importante que entienda en qué consiste. Por favor, lea detenidamente este documento y haga todas las preguntas que le puedan surgir.

1.JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) es una de las enfermedades crónicas más prevalentes en la población mundial. Existen una gran cantidad de enfermedades asociadas a la EPOC.

Se ha descrito en múltiples estudios que la carencia de apoyo social, ingresos bajos y nivel de estudios se encuentra relacionado con mala adherencia a tratamiento y con ello el reingreso temprano de pacientes con EPOC atendidos en plantas de hospitalización. Dichos estudios se han realizado en diversas poblaciones y no siendo aplicados en población que resida en España.

Por lo que se hace necesario realizar el estudio enfocándose en nuestra población con el fin de poder determinar las características y factores de riesgo de los pacientes con EPOC que reingresan y prolongan estancia hospitalaria en nuestra unidad.

Esta muestra podrá ser utilizada en futuros estudios sobre la EPOC.

2.OBJETIVO DEL ESTUDIO

Se le está pidiendo que participe en un estudio de investigación por ser un paciente que padece Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC). Este estudio se realiza para saber más acerca su enfermedad; en concreto, para establecer si los pacientes con estatus social

inferior, caracterizados por un bajo poder adquisitivo, un menor apoyo social y un menor nivel de estudios, presentan un mayor riesgo de reingreso precoz y/o ingresos más prolongados en el tiempo en la planta de Neumología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla.

3. PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Usted es completamente libre de elegir participar o no en el estudio. Su decisión no influirá en su atención médica.

No tendrá que hacer gasto alguno por el estudio.

No recibirá retribución.

Su responsabilidad como participante es la de aceptar el uso de la información de su historia clínica, y comunicar, de la mejor forma posible y veraz, información sobre su estado social en la actualidad, hasta el nivel que usted vea necesario.

4. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

El médico investigador valorará si usted es un candidato adecuado para el estudio, basándose en una serie de factores clínicos que se evaluarán al ingreso. Una vez usted haya otorgado su consentimiento y el médico investigador haya verificado que cumple los criterios para participar en el presente estudio, el médico recogerá la información derivada de su historia clínica y las introducirá en una base de datos.

Posteriormente, es posible que el médico recoja una serie de datos obtenidos durante su estancia hospitalaria, como datos analíticos y datos sociodemográficos obtenidos de un cuestionario que se deberá completar el día del alta hospitalaria.

Finalmente continuará su evaluación en las consultas externas de Neumología, donde se continuarán recopilando tanto datos clínicos como de pruebas complementarias, hasta completar 2 años de seguimiento ambulatorio.

5. RIESGOS E INCONVENIENTES

No existe ningún riesgo asociado a su participación en este estudio, puesto que está basado en los procedimientos habituales utilizados por su médico.

6. POSIBLES BENEFICIOS DEL ESTUDIO

Del estudio se obtendrá información importante acerca del impacto social en la evolución de la EPOC. Mediante su colaboración se espera que este estudio pueda ayudar a un avance en la determinación de factores pronóstico de esta patología y una optimización del manejo de la misma tanto en el ámbito hospitalario como ambulatorio.

6. CONFIDENCIALIDAD

^[17]_{SEP} Si usted accede a colaborar en este estudio, debe saber que serán utilizados algunos datos sobre su salud y su estatus socioeconómico, los cuales serán incorporados a una base de datos informatizada.

Sus documentos médicos podrían ser revisados por personas dependientes de las Autoridades Sanitarias, miembros de comités éticos independientes y otras personas designadas por ley para comprobar que el estudio se está llevando a cabo correctamente.

Sus datos serán objeto de un tratamiento dissociado, vinculándose a un código, de modo que la información que se obtenga no pueda asociarse a la persona identificada o identificable. Todos sus datos se mantendrán estrictamente confidenciales y exclusivamente su médico conocerá su identidad. Ningún dato personal que permita su identificación será divulgado por ningún medio, conservando en todo momento la confidencialidad médico-paciente (Ley de Protección de datos 15/1999 de 13 de Diciembre). De acuerdo a lo que establece la legislación, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio.

Preguntas / Información. Si desea hacer alguna pregunta o aclarar algún tema relacionado con el estudio, o si precisa ayuda por cualquier problema de salud relacionado con este estudio, por favor, no dude en ponerse en contacto con:

Dr.: Teléfono:

El investigador le agradece su inestimable colaboración.

Anexo 7. Formulario de Consentimiento Informado

Protocolo de Estudio de Factores Socio-económicos asociados a Reingreso de pacientes con EPOC. Estudio FASERPOC.

Yo, (Nombre y apellidos del paciente)

He leído la hoja de información que se me ha entregado. He podido hacer preguntas sobre el estudio. ^[17]_{SEP} He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con (Nombre y apellidos del investigador)

Comprendo que mi participación es voluntaria. Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1. Cuando quiera.
2. Sin tener que dar explicaciones.
3. Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

De igual modo, declaro haber sido informado de las medidas que serán adoptadas, en aras a garantizar la confidencialidad y disociación de cuanta información sobre mi persona pudiere recogerse durante el desarrollo del estudio, así como de la posibilidad de ejercitar los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición a través de una petición formal realizada ante el responsable del Estudio.

Presto libremente mi consentimiento para participar en el estudio.

Firma del paciente

Fecha

Firma del Investigador

Fecha

Revocación del consentimiento

Yo,..... (Nombre y apellidos del paciente)

Revoco mi consentimiento otorgado previamente para la participación en el estudio "Protocolo de Estudio de Factores Socio-económicos asociados a Reingreso de pacientes con EPOC. Estudio FASERPOC".

Firma del paciente

Fecha

Firma del Investigador

Fecha

Anexo ?. Hoja de compromiso del investigador

Formulario de Consentimiento Informado

Protocolo de Estudio de Factores Socio-económicos asociados a Reingreso de pacientes con EPOC. Estudio FASERPOC.



COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN
CLÍNICA DE CANTABRIA
IDIVAL



T. CONCEPCION SOLANAS GUERRERO, Secretario/a del COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE CANTABRIA

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del Investigador Principal del estudio:

TÍTULO: Estudio Para Valorar Los Cambios Que Produce La Abstinencia Tabáquica En Distintas Moléculas Dependientes Del Osteocito.

TIPO DE ESTUDIO: Proyecto de Investigación (Código interno: 2017.035)

y considera que:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto, teniendo en cuenta los beneficios esperados.
- Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.
- La capacidad del investigador y sus colaboradores, y las instalaciones y medios disponibles, tal y como ha sido informado, son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Este CEIC, emite un informe **FAVORABLE** para que dicho Estudio sea realizado en el **HOSPITAL UNIVERSITARIO MARQUÉS DE VALDECILLA**, actuando como investigador principal el Dr. **CARLOS ANTONIO AMADO DIAGO**.

Como queda reflejado en el Acta: **4/2017**.

Lo que firmo en Santander, a **17 de marzo de 2017**

T. CONCEPCION SOLANAS GUERRERO
Secretario/a del CEIC



BIBLIOGRAFÍA

1. Vogelmeier CF, Criner GJ, Martínez FJ et al. (2017). Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive lung disease. Report GOLD executive summary. *Am J Respir Crit Care Med* 195, 557-582.
2. Sin DD, Anthonisen NR, Soriano JB et al. (2006). Mortality in COPD: Role of comorbidities. *Eur Respir J* 28, 1245-1257.
3. Barnes PJ, Celli BR (2009). Systemic manifestations and comorbidities of COPD. *Eur Respir J* 33, 1165-1185.
4. Divo M, Cote C, de Torres JP et al. (2012). Comorbidities and risk of mortality in patients with COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 186, 155-161.
5. Chhabra SK, De S (2005). Cardiovascular autonomic neuropathy in COPD. *Respir Med* 99, 126-133.
6. Chen WL, Chen GY, Kuo CD (2006). Hypoxemia and autonomic neuropathy in COPD. *Respir Med* 100, 1547-1553.
7. Spruit MA, Pennings HJ, Janssen PP et al. (2007). Extra-pulmonary features in COPD patients entering rehabilitation after stratification for MRC dyspnoea grade. *Respir Med* 101, 2454-2463.
8. Decramer M, Janssens W, Miravittles M (2012). Chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet* 379, 1341-1351.
9. Romme EA, Geusens P, Lems WF et al (2015). Fracture prevention in COPD patients: A clinical 5-step approach. *Respir Res* 16, 32.
10. Sarkar M, Bhardwaj R, Madabhavi I et al (2015). Osteoporosis in COPD. *Clin Med Insights Circ Respir Pulm Med* 9, 5-21.
11. Burgel PR, Escamilla R, Pérez T et al. (2013). Impact of comorbidities on COPD-specific health-related quality of life. *Respir Med* 107, 233-241.
12. Frei A, Muggensturm P, Putcha N et al. (2014). Five comorbidities reflected the health status in patients with COPD: The newly developed COMCOLD index. *J Clin Epidemiol.* 67, 904-911.
13. Boyer L, Chouaid C, Bastuji-Garin S et al. (2015). Aging-related systemic manifestations in COPD patients and cigarette smokers. *PLoS One* 10, e0121539.
14. Boyer L, Bastuji-Garin S, Chouaid C et al. (2018). Are systemic manifestations ascribable to COPD in smokers? A structural equation modeling approach. *Sci Rep* 8, 8569-8576.
15. Sinden NJ, Stockley RA (2010). Systemic inflammation and comorbidity in COPD: A result of overspill of inflammatory mediators from the lung? Review of the evidence. *Thorax* 65, 930-936.
16. Nouredine H, Gary-Bobo G, Alifano M et al. (2011). Pulmonary artery smooth muscle cell senescence is a pathogenic mechanism for pulmonary hypertension in chronic lung disease. *Circ Res* 109, 543-553.
17. Dagouassat M, Gagliolo JM, Chrusciel S et al. (2013). The COX-2-PGE2 pathway maintains senescence of COPD fibroblasts. *Am J Respir Crit Care Med* 187, 703-714.
18. Adnot S, Amsellem V, Boyer L et al. (2015). Telomere dysfunction and cell senescence in chronic lung diseases: therapeutic potential. *Pharmacol Therap* 153, 125-134.
19. Morla M, Busquets X, Pons J et al. (2006). Telomere shortening in smokers with and without COPD. *Eur Respir J* 27, 525-528.

20. Savale L, Chaouat A, Bastuji-Garin S et al. (2009). Shortened telomeres in circulating leukocytes of patients with COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 179, 566-571.
21. Amsellem V, Gary-Bobo G, Marcos E et al. (2011). Telomere dysfunction causes sustained inflammation in COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 184, 1358-1366.
22. Van Remoortel H, Homikx M, Langer D et al. (2013). Risk factors and comorbidities in the preclinical stages of COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 189, 30-38.
23. Sabit R, Bolton CE, Edwards PH et al. (2007). Arterial stiffness and osteoporosis in COPD. *Am J Respir Crit Care Med*. 75, 1259-1265.
24. Mannino DM, Thorn D, Swensen A et al. (2008). Prevalence and outcomes of diabetes, hypertension and cardiovascular disease in COPD. *Eur Respir J* 32, 962-969.
25. Bon J, Fuhrman CR, Weissfeld JL et al. (2011). Radiographic emphysema predicts low bone mineral density in a tobacco-exposed cohort. *Am J Respir Crit Care Med* 183, 885-890.
26. Houben-Wilke S, Jörres RA, Bals R et al. (2017). Peripheral artery disease and its clinical relevance in patients with COPD and systemic consequences-comorbidities network study. *Am J Respir Crit Care Med* 195, 189-197.
27. Celli BR, Locantore N, Yates J et al. (2012). Inflammatory biomarkers improve clinical prediction of mortality in COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 185, 1065-1072.
28. Mc Allister DA, Maclay JD, Mills NL et al. (2007). Arterial stiffness is independently associated with emphysema severity in patients with COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 176, 1208-1214.
29. Chandra D, Stamm JA, Palevsky PM et al (2012). The relationship between pulmonary emphysema and kidney function in smokers. *Chest* 142, 655-662.
30. Stockley RA, Mannino D, Barnes PJ et al. (2009). Burden and pathogenesis of COPD. *Proc Am Thorac Soc* 6, 524-526.
31. Rovina N, Koutsoukova A, Kouloris NG et al. (2013). Inflammation and immune response in COPD: Where do we stand? *Mediat Inflamm* , 41373.
32. Falk JA, Kadiiev S, Criner GJ et al. (2008). Cardiac disease in COPD. *Proc Am Thorac Soc* 5, 543-548.
33. Hallmann R, Horn N, Selg M et al. (2005). Expression and function of laminins in the embryonic and mature vasculature. *Physiol Rev* 85, 979-1000.
34. Segura-Valdez L, Pardo A, Gaxiola M et al. (2000). Upregulation of gelatinases A and B, collagenases 1 and 2, and increased parenchymal cell death in COPD. *Chest* 117, 684-694.
35. Gharib SA, Manicone AM, Parks WC (2018). Matrix metalloproteinases in emphysema. *Matrix Biol* 73, 34-51.
36. Gilowska I, Kasper L, Bogacz K et al. (2018). Impact of matrix metalloproteinase 9 on COPD development in polish patients: genetic polymorphism, protein level and their relationship with lung function. *Biomed Res Int* 2018, 6417415.
37. Kraen M, Frantz S, Nihlén U et al. (2019). Matrix metalloproteinases in COPD and atherosclerosis with emphasis on the effects of smoking. *PLoS One* 14, e0211987.
38. Szucs B, Szucs C, Petrekanits M et al. (2019). Molecular caharacteristic and treatment of endothelial dysfunction in patients with COPD: A review article. *Int J Mol Sci* 20, E4329.
39. Churg A, Zhou S, Wright JL (2012). Series matrix metalloproteinases in lung health and disease: Matrix metalloproteinases in COPD. *Eur. Respir J* 39, 197-209.
40. Navratilova Z, Kolek V, Petrek M (2016). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in COPD. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 64, 177-193.

41. Montuschi P, Kharitonov SA, Ciabattoni G et al. (2003). Exhaled leukotrienes and prostaglandins in COPD. *Thorax* 58, 585-588.
42. Coxson HO, Dirksen A, Edwards LD et al. (2013). The presence and progression of emphysema in COPD as determined by CT scanning and biomarker expression: A prospective analysis from the ECLIPSE study. *Lancet Respir Med* 1, 129-136.
43. MacLay JD, McAllister DA, Mills NL et al. (2009). Vascular dysfunction in COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 180, 513-520.
44. Borgas D, Chambers E, Newton J et al. (2016). Cigarette smoke disrupted lung endothelial barrier integrity and increased susceptibility to acute lung injury via histone deacetylase 6. *Am J Respir Cell Mol Biol* 54, 683-696.
45. Aaron CP, Schwartz JE, Bielinski SJ et al. (2015). Intercellular adhesion molecule 1 and progression of percent emphysema: The MESA lung study. *Resp Med* 109, 255-264.
46. Rabe KF, Hurd S, Anzueto A et al. (2007). Global initiative for COPD. Global strategy for the diagnosis, management and prevention of COPD: GOLD executive summary. *Am J Respir Crit Care Med* 176, 532-555.
47. Peces-Barba G, Barberá JA, Agusti Á et al. (2008). Guía clínica SEPAR-ALAT de diagnóstico y tratamiento de la EPOC. *Arch Bronconeumol* 44, 271-281.
48. García-Aymerich J, Lange P, Benet M et al. (2006). Regular physical activity reduces hospital admission and mortality in COPD: A population based cohort study. *Thorax* 61, 772-778.
49. Watz H, Pitta F, Rochester CL et al. (2014). An official European respiratory society statement on physical activity in COPD. *Eur Respir J* 44, 1521-1537.
50. Oliveira A, Pinho C, Marques A (2015). Effects of a respiratory physiotherapy session in patients with LRTI: A pre/post-test study. *Clin Respir J* 11, 703-712.
51. Coulson JM, Rudd JH, Duckers JM et al. (2010). Excessive aortic inflammation in COPD: An 18F-FDG PET pilot study. *J Nucl Med* 51, 1357-1360.
52. Wanner A, Mendes ES (2010). Airway endothelial dysfunction in asthma and chronic obstructive pulmonary disease: A challenge for future research. *Am J Respir Crit Care Med* 182, 1344-1351.
53. Alexander RT, Rievaj J, Dimke H (2014). Paracellular calcium transport across renal and intestinal epithelia. *Biochem Cell Biol* 92, 467-480.
54. Diaz de Barboza GE, Guizzardi S, Tolosa de Talamoni N (2015). Molecular aspects of intestinal absorption. *World J Gastroenterol* 21, 7142-7154.
55. Yergey AL, Abrams SA, Vieira NE et al. (1994). Determination of fractional absorption of dietary calcium in humans. *J Nutr* 124, 674-682.
56. Kopic S, Geibel JP (2013). Gastric acid, calcium absorption and their impact on bone health. *Physiol Rev* 93, 189-268.
57. Pérez AV, Picotto G, Carpentieri AR et al. (2008). Minireview on regulation of intestinal calcium absorption. Emphasis on molecular mechanisms of transcellular pathway. *Digestion* 77, 22-34.
58. Christakos S, Lieben L, Masuyama R et al. (2014). Vitamin D endocrine system and the intestine. *Bonekey Rep* 3, 496.
59. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A et al. (2016). Vitamin D: Metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiol Rev* 96, 365-408.
60. Fleet JC (2017). The role of vitamin D in the endocrinology controlling calcium homeostasis. *Mol Cell Endocrinol* 453, 36-45.
61. Bronner F, Pansu D (1999). Nutritional aspects of calcium absorption. *J Nutr* 129, 9-12.

62. Shaker JL, Delfos L (2000). Calcium and phosphate homeostasis. In Feingold KR, Anawalt B, Boyce A et al. Editors. Endotext. South Darmouth MA.
63. Windaus A, Bock F (1936). Über das provitamin aus dem sterin der schweineschwarte. *Hoppe-Seylers Zeitschr Physiol Chem* 245, 168-170.
64. Nykjaer A, Dragun D, Walther D et al. (1999). An endocytic pathway essential for renal uptake and activation of the steroid 25-(OH) vitamin D. *Cell* 96, 507-515.
65. Gray RW, Omdahl JL, Ghazarian JG et al. (1972). Hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase. Subcellular location and properties. *J Biol Chem* 247, 7528-7532.
66. Murayama A, Takeyama K, Kitanaka S et al. (1999). Positive and negative regulations of the renal 25-hydroxyvitamin D3 1- α -hydroxylase gene by parathyroid hormone, calcitonin and 1 α -,25(OH)2D3 in intact animals. *Endocrinology* 140, 2224-2231.
67. Brenza HL, DeLuca HF (2000). Regulation of 25-hydroxyvitamin D3 1- α -hydroxylase gene expression by parathyroid hormone and 1,25-hydroxyvitamin D3. *Arch Biochem Biophys* 381, 143-152.
68. Liu S, Tang W, Zhou J et al. (2006). Fibroblast growth factor 23 is a counter-regulatory phosphaturic hormone for vitamin D. *J Am Soc Nephrol* 17, 1305-1315.
69. Quarles LD (2012). Role of FGF23 in vitamin D and phosphate metabolism: Implications in Chronic kidney disease. *Exp Cell Res* 318, 1040-1048.
70. Veldurthy V, Wei R, Oz L et al. (2016). Vitamin D, calcium homeostasis and aging. *Bone Research* 4, 16041.
71. Peng JB, Chen XZ, Berger UV et al. (2000). A rat kidney-specific calcium transporter in the distal nephron. *J Biol Chem* 275, 28186-28194.
72. Van Driel M, Van Leeuwen JPTM (2017). Vitamin D endocrinology of bone mineralization. *Mol Cell Endocrinol* 453, 46-51.
73. Nuttall ME, Patton AJ, Olivera DI et al. (1998). Human trabecular bone cells are able to express both osteoblastic and adipocytic phenotype: Implications for osteopenic disorders. *J Bone Miner Res* 13, 371-382.
74. Arkins GJ, Anderson PH, Findlay DM et al. (2007). Metabolism of vitamin D3 in human osteoblasts: Evidence for autocrine and paracrine activities of 1- α -25-dihydroxyvitamin D3. *Bone* 40, 1517-1528.
75. Lacey DL, Timms E, Tan HL et al. (1998). Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 93, 165-176.
76. Shimada T, Kakitani M, Yamazaki Y et al. (2004). Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *J Clin Invest* 113, 561-568.
77. Shimada T, Yamazaki Y, Takahashi M et al. (2005). Vitamin D receptor-independent FGF23 actions in regulating phosphate and vitamin D metabolism. *Am J Physiol Renal Physiol* 289, F1088-1095.
78. Van Abel M, Hoenderop JG, Van der Kemp AW et al. (2005). Coordinated control of renal calcium transport proteins by parathyroid hormone. *Kidney Int* 68, 1708-1721.
79. Pattanaungkul S, Riggs BL, Yergy AL et al. (2000). Relationship of intestinal calcium absorption to 1-25 -dihydroxyvitamin D (1,25(OH)2D) levels in young versus elderly women: Evidence for age-related intestinal resistance to 1,25(OH)2D action. *J Clin Endocrinol Metab* 85, 4023-4027.
80. Kemper B, Habener JF, Mulligan RC et al. (1974). Pre-parathyroid hormone: A direct translation product of parathyroid messenger RNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 71, 3731-3735.

81. Freeman MW, Wiren KM, Rapoport A et al. (1987). Consequences of amino-terminal deletions of preproparathyroid hormone signal sequence. *Mol Endocrinol* 1, 628-638.
82. Cantley LK, Russel J, Lettieri D et al. (1985). 1-25-dihydroxyvitamin D3 suppresses parathyroid hormone secretion from bovine parathyroid cells in tissue culture. *Endocrinology* 117, 2114-2119.
83. Russel J, Bar A, Sherwood LM et al. (1993). Interaction between calcium and 1-25-dihydroxyvitamin D3 in the regulation of preproparathyroid hormone and vitamin D receptor messenger ribonucleic acid in avian parathyroids. *Endocrinology* 132, 2639-2644.
84. Pfister MF, Lederer E, Forgo J et al. (1997). Parathyroid hormone-dependent degradation of type II Na/Pi cotransporters. *J Biol Chem* 272, 20125-20130.
85. Lotscher M, Scarpetta Y, Levi M et al. (1999). Rapid downregulation of rat renal Na/Pi cotransport in response to parathyroid hormone involves microtubule rearrangement. *J Clin Invest* 104, 483-494.
86. Shimizu T, Yoshitomi K, Nakamura M et al. Effects of PTH, calcitonin, cAMP on calcium transport in rabbit distal nephron segment. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol* 259: F408-F414.
87. Gesek FA, Friedman PA (1992). On the mechanism of parathyroid hormone stimulation of calcium uptake by mouse distal convoluted tubule cells. *J Clin Invest* 90, 749-758.
88. Ishizuya T, Yokose S, Hori M et al. (1997). Parathyroid hormone exerts disparate effects on osteoblast differentiation depending on exposure time in rat osteoblastic cells. *J Clin Invest* 99, 2961-2970.
89. Frolik CA, Black EC, Cain RL et al. (2003). Anabolic and catabolic bone effects of human parathyroid hormone (1-34) are predicted by duration of hormone exposure. *Bone* 33, 372-379.
90. Jilka RL, O'Brien CA, Ali AA et al. (2009). Intermittent PTH stimulates periosteal bone formation by actions on post-mitotic preosteoblasts. *Bone* 44, 275-286.
91. Lindsay R, Nieves J, Formica C et al. (1997). Randomised controlled study of effect of parathyroid hormone on vertebral-bone mass and fracture incidence among postmenopausal women on oestrogen with osteoporosis. *Lancet* 350, 550-555.
92. Lane NE, Sanchez S, Modin GW et al. (1998). Parathyroid hormone treatment can reverse corticosteroid-induced osteoporosis. Results of a randomized controlled clinical trial. *J Clin Invest* 102, 1627-1633.
93. Fu Q, Jilka RL, Manolagas SC et al. (2002). Parathyroid hormone stimulates receptor activator of NFkappa B ligand and inhibits osteoprotegerin expression via protein kinase A activation of cAMP-response element-binding protein *J Biol Chem* 277, 48868-48875.
94. Locklin RM, Khosla S, Turner RT et al. (2003). Mediators of the biphasic responses of bone to intermittent and continuously administered parathyroid hormone. *J Cell Biochem* 89, 180-190.
95. Huang JC, Sakata T, Pflieger LL et al. (2004). PTH differentially regulates expression of RANKL and OPG. *J Bone Miner Res* 19, 235-244.
96. Geibel JP, Hebert SC (2009). The functions and roles of the extracellular Ca²⁺-sensing receptor along gastrointestinal tract. *Annu Rev Physiol* 71, 205-217.
97. Marie PJ (2010). The calcium-sensing receptor in bone cells: A potential therapeutic target in osteoporosis. *Bone* 46, 571-576.
98. Riccardi D, Brown EM (2010). Physiology and pathophysiology of the calcium-sensing receptor in the kidney. 98, F485-F499.

99. Cañadillas S, Canalejo R, Rodriguez-Ortiz ME et al. (2010). The up-regulation of the parathyroid VDR expression by extracellular calcium is mediated by the ERK1/2-MAPK signaling pathway. *Am J Physiol Renal Physiol*. 298, F1197-F1204.
100. Ba J, Brown D, Friedman PA (2003). Calcium-sensing receptor regulation of PTH-inhibitable proximal tubule phosphate transport. *Am J Physiol Renal Physiol* 285, F1233-F1243.
101. Maiti A, Beckman MJ (2007). Extracellular calcium is a direct effector of VDR levels in proximal tubule epithelial cells that counter-balances effects of PTH on renal vitamin D metabolism. *J Steroid Biochem Mol Biol* 103, 504-508.
102. Hebert SC, Brown EM, Harris HW (1997). Role of the Ca-sensing receptor in divalent mineral ion homeostasis. *J Exp Biol* 200, 295-302.
103. Singer FR, Eyre DR (2008). Using biochemical markers of bone turnover in clinical practice. *Cleve Clin J Med* 75, 739-750.
104. Álvarez L (2007). Remodelado óseo. En: Mauri M, Álvarez E, Berlanga E. Actualización en la exploración bioquímica del metabolismo fosfocálcico. 1ª ed. Barcelona: Comité de publicaciones de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, 119-133.
105. Vasikaran S, Cooper C, Eastell R et al. (2011). International osteoporosis foundation and international of clinical chemistry and laboratory medicine position on bone marker standards in osteoporosis. *Clin Chem Lab Med* 49, 1271-1274.
106. Vasikaran S, Eastell R, Bruyère O et al. (2011). Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: A need for international reference standards. *Osteoporosis* 22, 391-420.
107. Dallas S, Prideaux M, Bonewald et al. (2013). The osteocyte: An endocrine cell...and more. *Endocr Rev* 34, 658-690.
108. Ramli FF, Chin KY (2020). A review of the potential application of osteocyte-related biomarkers, FGF 23, sclerostin and dickkopf-1 in predicting osteoporosis and fractures. *Diagnostics* 10,145.
109. Bellido T. (2014). Osteocyte-driven bone remodeling. *Calcif Tissue Int* 94, 25-34.
110. Ke HZ, Richards WG, Li X et al. (2012). Sclerostin and dickkopf-1 as therapeutic targets in bone diseases. *Endocr Rev* 33, 747-783.
111. Delgado-Calle J, Sañudo C, Bolado A et al. (2012). DNA methylation contributes to the regulation of sclerostin expression in human osteocytes. *J Bone Miner Res* 27, 926-937.
112. Delgado-Calle J, Bellido T (2015). Osteocytes and skeletal pathophysiology. *Curr Mol Biol Rep* 1, 157-167.
113. Coulson J, Bagley L, Barnouin Y et al. (2017). Circulating levels of dickkopf-1, osteoprotegerin and sclerostin are higher in old compared with young men and women and positively associated with whole-body bone mineral density in older adults. *Osteoporos Int* 28, 2683-2689.
114. Okazaki R, Watanabe R, Inoue D (2016). Osteoporosis associated with COPD. *J Bone Metab* 23, 111-120.
115. Jaramillo JD, Wilson C, Stinson DS et al. (2015). COPD Gene investigators. Reduced bone density and vertebral fractures in smokers. Men and COPD patients at increased risk. *Ann Am Thorac Soc* 12, 648-656)
116. Watanabe R, Okazaki R (2016). COPD and osteoporosis: Links, risks and treatment challenges. *Int J COPD* 11, 637-648.

117. Ward KD, Klesges RC (2001). A meta-analysis of the effects of cigarette smoking on bone mineral density. *Calcif Tissue Int* 68, 259-270.
118. Kanis JA, Johnell O, Oden A et al. (2005). Smoking and fracture risk: A meta-analysis. *Osteoporos Int* 16, 155-162.
119. Vestbo J, Prescott E, Almdal T et al. (2006). Body mass, fat-free body mass, from a random population sample: Findings from the Copenhagen City Heart Study. *Am J Respir Crit Care Med* 173, 79-83.
120. Korsic M, Kusec V (2014). Serum leptin and skeletal differences between obese and non-obese patients with COPD. *Obes Facts* 7, 399-407.
121. Remels AH, Gosker HR, Langen RC et al. (2013). The mechanisms of cachexia underlying muscle dysfunction in COPD. *J Appl Physiol* 114, 1253-1262.
122. Miller J, Edwards LD, Agusti A et al. (2013). Comorbidity , systemic inflammation and outcomes in the ECLIPSE cohort. *Respir Med* 107, 1376-1384.
123. Johansson J, Nordstrom A, Nordstrom P (2015). Objectively measured physical activity is associated with parameters of bone in 70-years-old men and women. *Bone* 81, 72-79.
124. Watanabe R, Tanaka T, Aita K et al. (2015). Osteoporosis is highly prevalent in japanese males with COPD and is associate with deteriorated pulmonary function. *J Bone Miner Metab* 33, 392-400.
125. Bai P, Sun Y, Jin J et al. (2011). Disturbance of the OPG/RANK/RANKL pathway and systemic inflammation in COPD patients with emphysema and osteoporosis. *Respir Res* 12, 157.
126. Liang B, Feng Y (2012). The association of low bone mineral density with systemic inflammation in clinically stable COPD. *Endocrine* 42, 190-195.
127. Arnett TR (2010). Acidosis, hypoxia and bone. *Arch Biochem Biophys* 503, 103-109.
128. Vrieze A, de Greef MH, Wijkstra PJ et al. (2007). Low bone mineral density in COPD patients related to worse lung function, low weight and decreased fat-free mass. *Osteoporos Int* 18, 1197-1202.
129. Graat-Verboom L, Van den Borne BE, Smeenk FW et al. (2011). Osteoporosis in COPD outpatients based on bone mineral density and vertebral fractures. *J Bone Miner Res* 26, 561-568.
130. Ton FN, Gunawardene SC, Lee H et al. (2005). Effects of low-dose prednisone on bone metabolism. *J Bone Miner Res* 20, 464-470.
131. Loke YK, Cavallazzi R, Singh S (2011). Risk of fractures with inhaled corticosteroids in COPD: Systemic review and meta-analysis of randomised controlled trials and observational studies. *Thorax* 66, 699-708.
132. Ebeling PR (2014). Vitamin D and bone health: Epidemiologic studies. *Bonekey Rep* 3, 511.
133. Forli L, Halse J, Haug E et al. (2004). Vitamin D deficiency, bone mineral density and weight in patients with advanced pulmonary disease. *J Intern Med* 256, 56-62.
134. Zhu B, Zhu B, Xiao C et al. (2015). Vitamin D deficiency is associated with the severity of COPD: A Systematic review and meta-analysis. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 10, 1907-1916.
135. Howe TE, Shea B, Dawson LJ et al. (2011). Exercise for preventing and treating osteoporosis in postmenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev* 7, CD000333.
136. Reid WD, Yamabayashi C, Goodridge D et al. (2012). Exercise prescription for hospitalized people with COPD and comorbidities: A synthesis of systematic reviews. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 7, 297-320.

137. Spruit MA, Singh SJ, Garvey C et al. (2013). An official american thoracic society european respiratory society statement: Key concepts and advances in pulmonary rehabilitation. *Am J Respir Crit Care Med* 188, e13-e64.
138. Thorin MH, Wihlborg A, Akesson K et al. (2015). Smoking, smoking cessation and fracture risk in elderly women followed for 10 years. *Osteoporos Int* 13, 932-936.
139. Kim J, Lee JH, Kim Y et al. (2013). Association between COPD and gastroesophageal reflux disease: A national cross-sectional cohort study. *BMC Pulm Med* 13, 51.
140. Chen LX, Zhou ZR, Li YL et al. (2015). Comparison of bone mineral density in lumbar spine and fracture rate among eight drugs in treatments of osteoporosis in men: A network meta-analysis. *PLoS One* 10, e0128032.
141. Lee AI, Goldstein RS (2015). Gastroesophageal reflux disease in COPD: Links and risks. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 10, 1935-1949.
142. Fletcher JM, Basdeo SA, Allen AC et al. (2012). Therapeutic use of vitamin D and its analogues in autoimmunity. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov* 6, 22-34.
143. Li X, He J, Yu M et al. (2020). The efficacy of vitamin D therapy for patients with COPD: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Ann Palliat Med* 9, 286-297.
144. Rook GA, Steele L, Fraher S et al. (1988). Vitamin D₃, gamma-interferon and control of proliferation of *Mycobacterium tuberculosis* by human monocytes. *Immunology* 57, 159-163.
145. Crowle AJ, Ross EJ, May MH et al. (1987). Inhibition by 1-25-(OH)₂ vitamin D₃ of the multiplication of virulent tubercle bacilli in cultured human macrophages. *Infect Immun* 55, 2945-2950.
146. Wang TT, Nestel FP, Bourdeau V et al. (2004). Cutting edge: 1-25-(OH)₂ vitamin D is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. *J Immunol* 173, 159-163.
147. Liu PT, Stenger S, Li H et al. (2006). Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science* 311, 1770-1773.
148. Hewison M (2012). An update of vitamin D and human immunity. *Clin Endocrinol* 76, 315-325.
149. Adams JS, Modlin RL, Diz MM et al. (1989). Potentiation of the macrophage 25-hydroxyvitamin D-1-hydroxylation reaction by human tuberculous pleural effusion fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 69, 457-460.
150. Prieti B, Treiber G, Pieber TR et al. (2013). Vitamin D and immune function. *Nutrients* 5, 2502-2511.
151. Amado CA (2014). Estado nutricional en vitamina D y péptidos antibióticos vitamina D dependientes (catelicidina y β -2 defensina) en sangre y líquido pleural: Posibles implicaciones fisiopatológicas y diagnósticas en los derrames pleurales. *Tesis Doctoral*. Universidad de Cantabria.
152. Shimada T, Hasewaga H, Yamazaki Y et al. (2004). FGF23 is a potent regulator of vitamina D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 19, 429-435.
153. Gattineni J, Bates C, Twombly K et al. (2009). FGF23 decrease renal NaPi-2a and NaPi-2c expression and induces hypophosphatemia in vivo predominantly via FGF receptor 1. *Am J Physiol Renal Physiol* 297, F282-F291.
154. Fiaccadori E, Coffrini E, Fracchia C et al. (1994). Hypophosphatemia and phosphorus depletion in respiratory and peripherals muscles of patients with respiratory failure due to COPD. *Chest* 105, 1392-1398.

155. Stroda A, Branderburg V, Daher A et al (2018). Serum phosphate and phosphate-regulatory hormones in COPD patients. *Respir Res* 19, 183-189.
156. Black PN, Scragg R (2005). Relationship between serum 25-(OH) vitamin D and pulmonary function in the third national health and nutrition examination survey. *Chest* 128, 3792-3798.
157. Afzal S, Langue P, Bojesen SE et al. (2014). Plasma 25-(OH) vitamin D, lung function and risk of COPD. *Thorax* 69, 24-31.
158. Puhan MA, Siebeling L, Frei A et al. (2014). No association of 25-(OH) vitamin D with exacerbations in primary care patients with COPD. *Chest* 145, 37-43.
159. Skaaby T, Husemoen LL, Thuesen BH et al. (2014). Vitamin D status and COPD: A prospective general population study. *PLoS One* 9, e90654.
160. Park JH, Park HK, Jung H et al. (2015). PTH as a novel biomarker for COPD: Korean national health and nutrition examination survey. *PLoS One* 10, e0138482.
161. Vega García-Puente MC (2019). El efecto del tabaco sobre el metabolismo óseo y su relación con los pacientes EPOC. *Trabajo Fin de Grado*. Facultad de Medicina. Universidad de Cantabria.
162. García-Río F, Calle M, Burgos F et al. (2013). Spirometry. Spanish Society of Pulmonology and Thoracic Surgery (SEPAR). *Arch Bronconeumol* 49, 388-401.
163. ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories (2002). ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med* 166, 111-117.
164. Xu Y, Gao C, He J et al. (2020). Sclerostin and its associations with bone metabolism markers and sex hormones in healthy community-dwelling elderly individuals and adolescents. *Front Cell Dev Biol* 8,57.
165. Sidhaye VK, Nishida K, Martínez FJ (2018). Precision medicine in COPD: Where are we and where do we need to go? *Eur Respir Rev* 27, 149.